

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID  
FACULTAD DE MEDICINA  
Departamento de Obstetricia y Ginecología



UTILIDAD DEL ANÁLISIS MOLECULAR DEL  
GANGLIO CENTINELA MEDIANTE TÉCNICA OSNA  
PARA LA PREDICCIÓN INTRAOPERATORIA DE  
AFECTACIÓN DE GANGLIOS NO CENTINELA  
EN EL CÁNCER DE MAMA

TESIS DOCTORAL

LUCÍA PAZ RAMÍREZ

Madrid, 2016









UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID  
FACULTAD DE MEDICINA  
Departamento de Obstetricia y Ginecología



UTILIDAD DEL ANÁLISIS MOLECULAR DEL  
GANGLIO CENTINELA MEDIANTE TÉCNICA OSNA  
PARA LA PREDICCIÓN INTRAOPERATORIA DE  
AFECTACIÓN DE GANGLIOS NO CENTINELA  
EN EL CÁNCER DE MAMA

DOCTORANDA:  
Lucía Paz Ramírez

DIRECTORES DE TESIS DOCTORAL:  
Dr. José Ignacio Sánchez Méndez  
Dr. David Alonso Hardisson Hernáez

Madrid, 2016





## INFORME SOBRE EL PROYECTO DE TESIS DOCTORAL DE Dña. LUCÍA PAZ RAMIREZ

D. José Ignacio Sánchez Méndez, Profesor Asociado del Departamento de Obstetricia y Ginecología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid, y Jefe de Sección del Servicio de Ginecología del Hospital Universitario La Paz, y

D. David Hardisson Hernáez, Profesor Titular del Departamento de Anatomía Patológica de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid, y Jefe de Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario La Paz,

### INFORMAN

como codirectores del trabajo presentado por Dña. Lucía Paz Ramírez como proyecto de tesis para optar al grado de doctor, y titulado: **“UTILIDAD DEL ANÁLISIS MOLECULAR DEL GANGLIO CENTINELA MEDIANTE TÉCNICA OSNA PARA LA PREDICCIÓN INTRAOPERATORIA DE AFECTACIÓN DE GANGLIOS NO CENTINELA EN EL CÁNCER DE MAMA”**, que reúne las condiciones pertinentes y necesarias en cuanto a objetivos propuestos, casuística, metodología, resultados y bibliografía revisada. Además, supone un nuevo avance dentro de la investigación del abordaje axilar en el tratamiento quirúrgico del cáncer de mama.

Por todo ello consideramos que este estudio reúne los requisitos precisos para ser defendido como tesis doctoral.

Y para que conste ante el tribunal que lo juzgue y las instancias administrativas, lo ratificamos en Madrid a 7 de enero de 2016.

Fdo. Dr. José Ignacio Sánchez Méndez

Fdo. Prof. David Hardisson Hernáez



## AGRADECIMIENTOS

A mis directores de tesis, el Dr. José Ignacio Sánchez Méndez y el Dr. David Alonso Hardisson Hernáez. Sus conocimientos, su colaboración y su orientación académica han sido imprescindibles para la correcta elaboración de este proyecto. Muchas gracias a ambos.

Quiero agradecer de manera muy especial al Dr. José Ignacio Sánchez Méndez, su esfuerzo, paciencia y dedicación. A ti, José Ignacio, mi más sentido agradecimiento por la confianza, la amabilidad, la ayuda y el afecto que siempre depositaste en mí, que tanto alentó mis momentos de flaqueza.

A todos los miembros de los distintos departamentos y servicios implicados del Hospital Universitario La Paz, en particular a la Unidad de Patología Mamaria, al Servicio de Ginecología y Obstetricia, al Servicio de Anatomía Patológica, y al Servicio de Bioestadística.

A mis padres y a mi hermana, por haberme transmitido sus valores, principios y perseverancia, siempre presentes en mi trayectoria profesional y personal, que tanto me han ayudado a alcanzar mis metas y objetivos.

A Jaime, gracias por creer en mí y hacer que todo parezca siempre más fácil. Su comprensión y consejo han sido vitales para seguir adelante. Ha sido el motor principal para poder culminar este proyecto.



# RESUMEN

## INTRODUCCIÓN:

Actualmente, la biopsia selectiva del ganglio centinela es el procedimiento estándar para la estadificación axilar en el cáncer de mama con axila clínicamente negativa, lo que permite reducir la morbilidad de la linfadenectomía axilar. La incidencia de afectación tumoral de ganglios no centinela cuando el ganglio centinela es metastásico es del 25-45% por lo que sería de gran interés poder predecir en qué pacientes podría evitarse la realización de una linfadenectomía axilar. En pacientes con ganglio centinela positivo, numerosos estudios han demostrado asociación entre diferentes factores y la probabilidad de afectación de ganglios no centinela. El tamaño de las metástasis analizado mediante estudio histológico convencional es uno de los parámetros con mayor valor estadístico para evitar la realización de linfadenectomía. Sin embargo, el estudio histológico del ganglio centinela no está estandarizado. La reciente aplicación de una nueva técnica molecular llamada OSNA (“One Step Nucleid acid Amplification”) permite el diagnóstico intraoperatorio estandarizado y definitivo del ganglio centinela al detectar metástasis en el ganglio centinela mediante la determinación cuantitativa de la expresión de ARNm de la citoqueratina 19. El sumatorio del número de copias de citoqueratina 19/ $\mu$ L de todos los ganglios centinela positivos constituye la carga tumoral total.

## HIPÓTESIS Y OBJETIVOS:

Cuantificar la carga tumoral total en los ganglios centinela positivos evaluados mediante el método OSNA y determinar si esta carga tumoral total predice la presencia de metástasis en ganglios no centinela, en pacientes con estadios precoces de cáncer de mama.

## **MATERIAL Y MÉTODO:**

Se realizó un estudio retrospectivo de las pacientes con cáncer de mama a las que se realizó biopsia selectiva de ganglio centinela intraoperatoriamente mediante método OSNA desde abril 2010 a octubre 2014 en nuestro centro. Nuestra población incluye 704 procedimientos de biopsia selectiva de ganglio centinela realizados en 696 pacientes con cáncer de mama cTis-3 cN0. Se recogieron los datos de carga tumoral total en los casos con resultado de ganglio centinela positivo. Para poder trabajar con cifras más manejables, se realizó una transformación logarítmica de estos datos de carga tumoral total (log CTT).

## **RESULTADOS:**

Se demostró asociación estadísticamente significativa entre la probabilidad de afectación metastásica de ganglios no centinela y los datos de log CTT, de tal forma que, cuando todos los ganglios no centinela resultaron negativos para metástasis, la media del log CTT fue 0,5 puntos menor que en el caso de encontrar algún ganglio no centinela positivo ( $p=0,022$ ). Al construir una curva ROC con los datos de carga tumoral total obtenemos un AUC de 0,624 (IC 95% 0,505-0,742). Si fijamos un VPN= 86%, obtenemos un valor de carga tumoral total de 5.888 copias de ARNm-CK19/ $\mu\text{L}$ , lo que implica que, por debajo de este número de copias, el 86% tendrán todos los ganglios no centinela negativos y el 14% tendrá algún ganglio no centinela positivo. Con este punto de corte, la sensibilidad es 0,88 (IC95% 0,77-0,99), la especificidad 0,29 (IC95% 0,19-0,39), el VPP= 0,33 (IC95% 0,23-0,43), y el VPN= 0,86 (IC95% 0,73-0,99).

En el análisis multivariado, la carga tumoral total es un predictor de metástasis de ganglios no centinela en pacientes con tumores de grado histológico G1-G2, de tal forma que al construir una curva ROC para predecir la afectación en ganglios no centinela obtenemos un AUC de 0,705 (IC95% 0,58-0,83, con una  $p= 0,001$ ). Si fijamos un VPN= 95%, obtenemos un valor de carga tumoral total de 7.762 copias de ARNm-CK19/ $\mu\text{L}$ , lo que implica que, de los tumores G1-G2 con  $< 7.762$  copias de ARNm-CK19/ $\mu\text{L}$ , el 95% tienen todos los GNC negativos mientras que el 5% tienen algún ganglio no centinela positivo.



## **CONCLUSIONES:**

El dato de carga tumoral total que aporta el método OSNA durante el estudio intraoperatorio del GC en pacientes con cáncer de mama es un factor predictivo independiente de presencia de metástasis adicionales en GNC. Esta capacidad predictiva es mejor que la del dato de número de ganglios centinela positivos.

El punto de corte propuesto de 7.762 copias de ARNm-CK19/  $\mu\text{L}$  en carcinomas mamarios de grados G1 y G2, y de 5.888 en el conjunto de los cánceres de mama, puede representar una herramienta útil en la selección de pacientes en los cuales la linfadenectomía axilar podría estar recomendada dado el riesgo de tener metástasis adicionales en ganglios no centinela.

## **ABSTRACT**

### **BACKGROUND:**

Currently, sentinel lymph node biopsy is the standard procedure for axillary staging in clinically node negative breast cancer patients, thus reducing the morbidity of axillary lymphadenectomy. The incidence of metastasis in non-sentinel lymph nodes when the sentinel lymph node is positive is 25-45%, so it would be of great interest to predict in which patients the lymphadenectomy could be safely avoided. In patients with positive sentinel lymph node, numerous studies have shown an association between several factors and the likelihood of non-sentinel lymph node involvement. The size of metastases analyzed by conventional histological methods is one of the parameters with greater statistical power to prevent lymphadenectomy. However, the histological study of the sentinel lymph node is not standardized. The recent implementation of a new molecular technique called OSNA ("One Step Nucleid acid Amplification") allows a standardized and definitive intraoperative analysis of the sentinel lymph node by doing a quantitative determination of mRNA expression of cytokeratin 19. The total tumor

load is the sum of the number of copies of cytokeratin 19/uL of all positive sentinel lymph nodes detected.

## **OBJECTIVES:**

To quantify the total tumor load in positive sentinel lymph nodes evaluated by OSNA and to determine if this parameter predicts the presence of non-sentinel lymph node metastases in patients with early stage of breast cancer.

## **MATERIALS AND METHODS:**

A retrospective study of patients with breast cancer who underwent sentinel lymph node biopsy by OSNA method in our hospital from April 2010 to October 2014 was performed. Our population includes 704 procedures of sentinel lymph node biopsy performed in 696 patients with breast cancer cTis-3 cN0. Total tumor load data were collected in those cases with positive sentinel node result. We transformed these results into logarithmic total tumor load (log TTL) to be able to work with more manageable numbers.

## **RESULTS:**

There was a statistically significant association between the probability of metastasis in non-sentinel lymph nodes and log TTL, so it was shown that, when all non-sentinel lymph nodes were negative for metastasis, the mean log TTL was 0.5 points lower than those with any positive sentinel lymph node ( $p = 0.022$ ). We built a ROC curve using the log TTL obtaining an AUC of 0.624 (95% CI 0.505 to 0.742). If we set a NPV = 86%, we get a value of 5,888 mRNA copies of CK19/uL, meaning that below this number of copies, 86% of cases had a negative result in all non-sentinel lymph nodes. With this cut-point, the sensitivity is 0.88 (95% CI 0.77 to 0.99), specificity 0.29 (95% CI 0.19 to 0.39), PPV = 0.33 (95% from 0.23 to 0.43), and NPV = 0.86 (95% CI 0.73 to 0.99).

In multivariate analysis, the total tumor load is a predictor of metastatic non-sentinel lymph nodes in G1-G2 tumors. In the ROC curve we constructed, we obtained an AUC of 0.705 (CI95 % 0.58 to 0.83, with  $p = 0.001$ ). If we set a NPV =

95%, we obtain a value of 7,762 mRNA CK19 copies/uL, implying that 95% of G1-G2 tumors with <7,762 copies of mRNA-CK19/uL, had a negative result in all non-sentinel lymph nodes.

## **CONCLUSIONS:**

The intraoperative data of total tumor load provided by the OSNA method is an independent predictor factor of the presence of additional metastases in non-sentinel lymph nodes. This predictive ability is better than the number of positive sentinel lymph nodes.

The cut-points proposed of 7,762 mRNA CK19 copies/uL in G1-G2 breast cancer patients and 5,888 mRNA CK19 copies/uL in all patients, may represent a useful tool in the selection of patients for whom the axillary lymphadenectomy could be safely avoided.



# ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN - ABSTRACT.....	IX
NECESIDAD Y JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.....	1
INTRODUCCIÓN.....	5
1. ASPECTOS GENERALES DEL CÁNCER DE MAMA.....	7
A.EPIDEMIOLOGÍA.....	7
B.FACTORES DE RIESGO .....	8
C.HISTORIA NATURAL.....	13
2. DIAGNÓSTICO .....	15
3. ASPECTOS ANATOMOPATOLÓGICOS.....	19
A.CLASIFICACIÓN HISTOPATOLÓGICA.....	19
B.ESTADIFICACIÓN TNM .....	20
C.FACTORES PRONÓSTICOS .....	26
D.CLASIFICACIÓN MOLECULAR .....	31
4. TÉCNICA OSNA .....	35
A.INTRODUCCIÓN .....	35
B.MÉTODO .....	36
C.APORTACIONES/VENTAJAS DEL OSNA.....	38
D.LIMITACIONES .....	38
5. TRATAMIENTO .....	40
A.TRATAMIENTO QUIRÚRGICO LOCAL .....	40
B.TRATAMIENTO QUIRÚRGICO REGIONAL (evaluación ganglionar).....	44
C.TRATAMIENTO LOCORREGIONAL CON RADIOTERAPIA .....	45
D.TRATAMIENTO SISTÉMICO .....	49
6. BIOPSIA SELECTIVA DEL GANGLIO CENTINELA.....	52
A.RECUERDO HISTÓRICO .....	52
B.ANATOMÍA LINFÁTICA DE LA MAMA Y LA AXILA.....	52
C.CONCEPTO Y DEFINICIÓN DEL GANGLIO CENTINELA .....	55
D.VALIDACIÓN DE LA TÉCNICA.....	55
E.CRITERIOS DE INDICACIÓN.....	56
F.CRITERIOS DE EXCLUSIÓN O CONTRAINDICACIÓN .....	56
G.PROCEDIMIENTO .....	58
H.CONDUCTA A SEGUIR EN CASO DE GANGLIO CENTINELA POSITIVO .....	63
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS .....	73
1. HIPÓTESIS .....	73
2. OBJETIVOS.....	73
A.PRINCIPAL .....	73
B.SECUNDARIOS.....	73

MATERIAL Y MÉTODO .....	77
1. POBLACIÓN .....	77
2. IDENTIFICACIÓN DEL GANGLIO CENTINELA .....	80
3. ESTUDIO INTRAOPERATORIO DEL GANGLIO CENTINELA MEDIANTE OSNA .....	83
4. ACTITUD SEGÚN EL RESULTADO OBTENIDO MEDIANTE OSNA EN EL GANGLIO CENTINELA .....	84
5. ESTUDIO DIFERIDO DE GANGLIOS NO CENTINELA MEDIANTE HISTOLOGÍA.....	84
6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	85
RESULTADOS .....	89
1. RESULTADOS DESCRIPTIVOS .....	89
A. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE NUESTRA POBLACIÓN .....	91
B. CARACTERÍSTICAS ANATOMOPATOLÓGICAS.....	97
2. RESULTADOS ANALÍTICOS.....	117
A. ANÁLISIS UNIVARIANTE .....	117
B. ANÁLISIS MULTIVARIANTE .....	120
DISCUSIÓN .....	129
1. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y ANATOMOPATOLÓGICAS .....	129
2. EFICACIA DE LA BSGC .....	132
3. AFECTACIÓN METASTÁSICA DEL GC.....	135
4. AFECTACIÓN METASTÁSICA DE LOS GNC.....	139
5. LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN ABIERTAS.....	154
CONCLUSIONES .....	157
BIBLIOGRAFÍA.....	161

# ÍNDICE DE TABLAS, FIGURAS Y GRÁFICOS

## **TABLAS**

TABLA 1. Categorías del Sistema BIRADS .....	16
TABLA 2. Clasificación TNM del CM según la 7ª edición de la AJCC.....	21
TABLA 3. Clasificación del CM según estadios pronósticos.....	27
TABLA 4. Clasificación molecular del CM.....	32
TABLA 5. Características de bajo riesgo para recomendar el uso de IPM.....	46
TABLA 6. Grupos de riesgo para indicación de RT post-mastectomía .....	48
TABLA 7. Estudios que analizan el papel predictivo de la CTT.....	152

## **FIGURAS**

FIGURA 1. Imágenes utilizadas en la interpretación de estudios SPECT-TAC .....	82
--	----

## **GRÁFICOS**

GRÁFICO 1. Distribución de la población por rangos de edad.....	91
GRÁFICO 2. Estado hormonal de la población.....	91
GRÁFICO 3. Lateralidad de la lesión.....	92
GRÁFICO 4. Localización del carcinoma dentro de la mama.....	92
GRÁFICO 5. Focalidad tumoral.....	93
GRÁFICO 6. Clasificación clínica del tamaño tumoral .....	93
GRÁFICO 7. Tipo de Lesión .....	94
GRÁFICO 8. Clasificación BIRADS de mamografía y ecografía al diagnóstico .....	95
GRÁFICO 9. Distribución del tratamiento primario realizado .....	96
GRÁFICO 10. Clasificación anatomopatológica del tamaño tumoral.....	97
GRÁFICO 11. Tipo histológico .....	98
GRÁFICO 12. Grado histológico .....	98
GRÁFICO 13. Presencia de ILV .....	99
GRÁFICO 14. Fenotipo molecular .....	99
GRÁFICO 15. Positividad de RE .....	100

GRÁFICO 16. Porcentaje de expresión de RE .....	100
GRÁFICO 17. Positividad de RP .....	101
GRÁFICO 18. Porcentaje de expresión de RP .....	101
GRÁFICO 19. Expresión de Ki67 .....	102
GRÁFICO 20. Porcentaje de expresión de Ki67 .....	102
GRÁFICO 21. Expresión del oncogén Her2/neu .....	103
GRÁFICO 22. Número de GC extraídos.....	104
GRÁFICO 23. Número de GC extraídos en función del resultado del análisis del GC ...	104
GRÁFICO 24. Clasificación patológica de la afectación nodal .....	105
GRÁFICO 25. Clasificación patológica de los diferentes estadios pronósticos .....	106
GRÁFICO 26. Resultado del análisis del GC: positivo o negativo.....	107
GRÁFICO 27. Resultado del análisis de GC: macro/micrometástasis, CTA o negativo..	107
GRÁFICO 28. Número de GC positivos .....	108
GRÁFICO 29. Número de GC positivos en aquellos casos con resultado de GC positivo para macrometástasis .....	109
GRÁFICO 30. log CTT de GC positivo para micrometástasis.....	110
GRÁFICO 31. log CTT de GC positivo para macrometástasis.....	110
GRÁFICO 32. Realización de LA.....	111
GRÁFICO 33. Realización de LA en función de macrometástasis o micrometástasis ...	111
GRÁFICO 34. Número de GNC extraídos .....	112
GRÁFICO 35. Estudio anatomopatológico de los GNC .....	113
GRÁFICO 36. Estudio anatomopatológico de los GNC según el resultado de la BSGC (macrometástasis vs. micrometástasis en GC) .....	114
GRÁFICO 37. Resultado anatomopatológico de los GNC en función del número de GC positivos para macrometástasis .....	115
GRÁFICO 38. Desglose de casos en los que se ha realizado LA.....	116
GRÁFICO 39. Análisis univariante relacionando tipo histológico y afectación metastásica de GNC .....	118
GRÁFICO 40. Afectación metastásica en GNC en carcinomas G1-G2 según micro o macrometástasis ( $\geq 5000$ copias ARNm/ $\mu$ L) en GC .....	121
GRÁFICO 41. Afectación metastásica en GNC en carcinomas G3 según micro macrometástasis ( $\geq 5000$ copias ARNm/ $\mu$ L) en GC.....	122



GRÁFICO 42. Curva ROC incluyendo CTT y grado histológico G1-G2 .....	123
GRÁFICO 43. Coordenadas de la curva ROC “CTT y grado histológico G1-G2” .....	123
GRÁFICO 44. Afectación metastásica en GNC en carcinomas G1-G2 según CTT $\leq$ 7762 copias ARNm/ $\mu$ L o $>$ 7762 copias ARNm/ $\mu$ L .....	124
GRÁFICO 45. Curva ROC incluyendo CTT .....	125
GRÁFICO 46. Coordenadas de la curva ROC “CTT” .....	126



## ABREVIATURAS Y SIGLAS

- ACOSOG:** American College of Surgeons Oncology Group
- ADN:** Ácido Desoxirribonucleico
- AJCC:** American Joint Committee on Cancer
- AMAROS:** After Mapping of the Axilla: Radiotherapy Or Surgery
- ARNm:** Ácido Ribonucleico mensajero
- ASCO:** American Society of Clinical Oncology
- ASTRO:** American Society for Therapeutic Radiology and Oncology
- AUC:** Área bajo la curva
- BAG:** Biopsia con Aguja Gruesa
- BIRADS:** Breast Imaging Reporting and Data System
- BRCA 1 y 2:** Gen “Breast Cancer” 1 y 2
- BSGC:** Biopsia Selectiva de Ganglio Centinela
- CAP:** Complejo Areola-Pezón
- CDIS o CID:** Carcinoma Ductal *In Situ* o Carcinoma Intraductal
- CDI:** Carcinoma Ductal Infiltrante
- CEA:** Antígeno Carcinoembrionario
- CK:** Citoqueratina
- CLI:** Carcinoma Lobulillar Infiltrante
- CLIS:** Carcinoma Lobulillar *in situ*
- CM:** Cáncer de mama
- cps:** cuentas por segundo
- CTA:** Células Tumoraes Aisladas
- CTT:** Carga Tumoral Total
- EGWBSP:** European Working Group for Breast Screening Pathology
- GC:** Ganglio Centinela
- GEC-ESTRO:** Groupe Européen Curiethérapie – European Society for  
Therapeutic Radiology and Oncology
- GNC:** Ganglio No Centinela
- H&E:** Hematoxilina y Eosina

**HT:** Hormonoterapia

**IBCSG:** International Breast Cancer Study Group

**IC 95%:** Intervalo de confianza al 95%

**IHQ:** Inmunohistoquímica

**ILV:** Invasión Linfovascular

**IPM:** Irradiación Parcial de la Mama

**LA:** Linfadenectomía Axilar

**MSKCC:** Memorial Sloan Kettering Cancer Center

**NCCN:** National Comprehensive Cancer Network

**OSNA:** One Step Nucleid acid Amplification

**PAAF:** Punción Aspiración con Aguja Fina

**PCR:** Polymerase Chain Reaction

**QT:** Quimioterapia

**RE:** Receptor de Estrógeno

**ROC:** Receiver Operating Characteristics

**RP:** Receptor de Progesterona

**RT:** Radioterapia

**RT-PCR:** Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction

**RR:** Riesgo Relativo

**SESPM:** Sociedad Española de Senología y Patología Mamaria

**SLE:** Supervivencia Libre de Enfermedad

**SG:** Supervivencia Global

**VPN:** Valor predictivo negativo

**VPP:** Valor predictivo positivo

# **NECESIDAD Y JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO**



## NECESIDAD Y JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

De forma tradicional, la linfadenectomía axilar (LA) ha sido parte del manejo habitual de las pacientes con cáncer de mama (CM) a pesar de no ser una intervención exenta de complicaciones, ya que la disrupción anatómica que implica puede producir linfedema, lesión vásculo-nerviosa e incapacidad funcional y sensorial en la extremidad superior. Esto ha sido así ya que se consideraba que era necesario conocer el estado de los ganglios linfáticos regionales, mediante su estudio anatomopatológico, para poder establecer tanto el pronóstico de la enfermedad, el control regional de la misma (impacto en la recurrencia local), así como el tratamiento adyuvante posterior (impacto en la supervivencia).

Ahora bien, en los últimos 15 años, esto ha cambiado en el sentido de que, si bien continúa considerándose necesario conocer el estado de los ganglios linfáticos regionales de las pacientes con CM, hoy en día, si no hay evidencia clínica ni ecográfica de afectación axilar, la técnica estándar para ello es la realización de una biopsia selectiva de ganglio centinela (BSGC). La introducción del concepto de ganglio centinela (GC) y su aplicación clínica nos permite conocer en la mayoría de casos (1) dicho estatus ganglionar sin necesidad de realizar una LA sistemática, con las consiguientes ventajas en cuanto a reducción de la morbilidad asociada al procedimiento.

En los casos de GC negativo o microafectado la BSGC se ha mostrado tan eficaz como la LA en cuanto a supervivencia libre de enfermedad (SLE) y supervivencia global (SG) (2) a la vez que permite una adecuada planificación terapéutica. Además al limitarse el estudio axilar a uno o, a lo sumo, unos pocos ganglios, es posible realizar un diagnóstico mucho más minucioso y exhaustivo que en el caso de la LA en la que, generalmente, por cada ganglio se realiza una sola sección que se tiñe con Hematoxilina-Eosina (H&E) (3).

Los patólogos han tratado de desarrollar un método que conjugara la máxima sensibilidad y especificidad con el menor tiempo diagnóstico. Esto ha dado lugar a múltiples protocolos citológicos o histológicos que incluyen desde una impronta, hasta el estudio de cortes seriados del ganglio en su totalidad incluyendo técnicas inmunohistoquímicas (IHQ). De esta manera, el diagnóstico del GC es, no sólo protocolo-dependiente sino además patólogo-dependiente ya que, en muchos casos, los criterios diagnósticos son escasamente estandarizables y reproducibles.

La reciente aplicación de una nueva técnica molecular llamada OSNA (*“One Step Nucleid acid Amplification”*) ha marcado el inicio de una nueva etapa en la historia del GC en el CM, ya que permite el diagnóstico intraoperatorio estandarizado y definitivo del GC. Con ello desaparecen las discrepancias entre el diagnóstico intraoperatorio y el diferido, que pueden suponer someter a la paciente a una segunda intervención (4), y la cirugía sobre la axila puede realizarse en un solo tiempo quirúrgico.

Por otra parte, todos los autores recogen que en la mayoría (55-75%) de los casos con GC afecto no existen metástasis en los ganglios no centinelas (GNC). Sería por tanto de gran interés el poder predecir la afectación, o no, de los GNC para evitar así LA en blanco. En esta última década, se han publicado múltiples trabajos diseñados para la búsqueda de factores que pudieran tener relación con la afectación de otros ganglios además del GC. Los factores pronósticos que han demostrado tener asociación (en diferente orden y porcentaje) son: el tamaño de las metástasis en el GC (parece ser el parámetro con mayor valor estadístico para evitar la realización de LA), el número de GC positivos, el tamaño y el grado del tumor primario, la presencia de invasión linfovascular (ILV) y la rotura capsular. Hay otros factores de reciente incorporación y por tanto pendientes de análisis como son la clasificación por perfiles moleculares y la carga tumoral del GC medida con OSNA, que seguramente nos podrán ayudar a decidir a qué pacientes no es preciso completar la LA.



# INTRODUCCIÓN



## INTRODUCCIÓN

### 1. ASPECTOS GENERALES DEL CÁNCER DE MAMA

#### A. EPIDEMIOLOGÍA

El CM es globalmente el tumor maligno más frecuente entre las mujeres de todo el mundo (a excepción de los tumores malignos de piel no melanomas). Representa el 16% de todos los cánceres femeninos (5).

Su incidencia varía mucho según las zonas. En países desarrollados, se estima que el riesgo de padecer CM a lo largo de la vida es de, aproximadamente, 1 de cada 8 mujeres. Europa Oriental, América del Sur, África Austral y Asia Occidental presentan incidencias moderadas, y la incidencia más baja se da en la mayoría de los países africanos. En todas las áreas se observa un incremento de la incidencia del CM (5).

Existe también una importante variabilidad en lo que respecta a las tasas de supervivencia del CM también en todo el mundo, desde el 80% o más en América del Norte, Suecia y Japón, pasando por un 60% aproximadamente en los países de ingresos medios, hasta cifras inferiores al 40% en los países de ingresos bajos (6). Las bajas tasas de supervivencia observadas en los países poco desarrollados pueden explicarse principalmente por la falta de programas de detección precoz, que hace que un alto porcentaje de mujeres acudan al médico con la enfermedad ya muy avanzada, pero también por la falta de servicios adecuados de diagnóstico y tratamiento.

#### **Situación en España:**

En España se diagnostican unos 22.000 casos al año, lo que representa casi el 30% de todos los tumores del sexo femenino en nuestro país. La mayoría de los casos se diagnostican entre los 35 y los 80 años, con una incidencia máxima entre los 45 y los 65 (7).

La incidencia es menor que la de Estados Unidos y Canadá, Reino Unido, Países Bajos, Bélgica, Alemania, Francia y Suiza. Es similar al resto de países de Europa Mediterránea, Centroeuropeos, Portugal e Irlanda.

Existe una distribución geográfica de incidencia notablemente variable según las provincias. Así en Cataluña la tasa de incidencia es de 83,9 casos/100.000 habitantes, mientras que la media nacional se sitúa en 50,9 casos/100.000 habitantes.

## B. FACTORES DE RIESGO

### Genéticos y familiares:

Sospechamos una predisposición hereditaria al CM ante dos grandes grupos de situaciones:

- por un lado, cuando una paciente es diagnosticada de CM a una edad significativamente más joven de lo habitual, como es antes de los 30-35 años de edad. En este caso, consideramos que existe una sospecha de predisposición hereditaria al CM y su riesgo, así como el de sus familiares directos (hermanas, madre e hijas), es significativamente superior al de la población general.
- por otro lado, cuando existe una importante agregación familiar de CM.

Se ha demostrado que, cuando una mujer no tiene antecedentes familiares de CM el riesgo de padecer este tipo de cáncer aumenta con la edad, lo que se conoce como riesgo poblacional, y éste se sitúa alrededor del 8%. Cuando una mujer tiene un familiar de primer grado afecta de CM (hermana, madre o hija) tiene un riesgo mayor de padecer CM, situándose aproximadamente en un 13% a lo largo de la vida. Este riesgo es mayor si hay dos familiares directos afectas de CM, situándose entonces en aproximadamente el 21% a lo largo de la vida. Si hay 3 o más familiares de primer grado afectas de CM, el riesgo se considera muy elevado, superior al 30% y hablamos entonces de predisposición hereditaria al CM (8). De

esta forma, entre el 5 y el 10% de estos cánceres tienen probablemente un origen familiar (9). Hoy en día conocemos dos genes de alta penetrancia implicados en la oncogénesis del CM: los genes *BRCA1* y *BRCA2* (situados en el cromosoma 17 y en el cromosoma 13 respectivamente y descubiertos en los años 1994 y 1995). Su estudio nos permite individualizar el riesgo de desarrollar CM en un individuo con historia familiar identificando quién ha heredado esa predisposición. Podemos así optimizar las medidas de prevención primaria o secundaria en estas mujeres. Además, permite retirar de estas medidas de seguimiento estricto a las familiares que no han heredado la predisposición genética. Es importante sin embargo, recordar que el estudio genético tiene limitaciones. Entre éstas destacan que no todas las alteraciones genéticas son identificables, bien por motivos técnicos o porque todavía no se conocen todos los genes responsables de la predisposición hereditaria al cáncer, y que no todas las alteraciones que se detectan tienen una traducción clínica sencilla.

Las mutaciones específicas del *BRCA1* y el *BRCA2* son más prevalentes en las mujeres de ascendencia judía.

## Hormonales:

### a. Endógenos:

- **sexo:** el CM es casi exclusivo de la mujer, puesto que es 100 veces menos frecuente en el hombre. A igual edad y estadio, el pronóstico es el mismo en el hombre y en la mujer. En las familias en las que se han dado numerosos casos de CM y hay un caso masculino, la mutación observada con más frecuencia sería la del gen *BRCA2*.

- **edad de menarquia y edad de menopausia:** cuanto más temprana es la edad de la menarquia y cuanto más tardía es la edad de la menopausia, mayor es el riesgo de CM (10). Sin embargo, las diferencias observadas según este criterio no son muy importantes ya que estos factores son relativamente marginales si no se tienen en cuenta los extremos. La explicación biológica sigue siendo discutida y

probablemente difícil de resolver por la gran cantidad de factores que puedan llevar a confusión.

- **edad de primer embarazo y número de hijos:** el riesgo de CM aumenta cuando el primer embarazo es tardío (por encima de los 30 años). Además, las mujeres cuyo primer embarazo fue posterior a los 35 años tienen un riesgo más importante que las nulíparas (riesgo relativo o RR= 1,2) (11) (12). El número de hijos, y sobre todo cuando la paciente los ha tenido joven, sería también un factor protector. No obstante, algunos autores piensan que tener un hijo después de los 38 años es un factor de riesgo, independientemente del número de hijos anteriores (13). Cabe destacar que el riesgo de CM se ve aumentado en los años posteriores al parto y es a largo plazo cuando este embarazo tiene un efecto protector posterior. Algunos autores han emitido la hipótesis según la cual los niveles de estradiol y de progesterona propios del embarazo ejercerían un efecto deletéreo inmediato, que después de 10 años dejaría paso al efecto protector de la gestación (11) (14).

### **b. Exógenos:**

- **anticoncepción hormonal oral:** no se ha demostrado una clara asociación con el riesgo de CM.

- **terapia hormonal sustitutiva:** en la mayoría de los estudios epidemiológicos no se encuentra ningún aumento importante del riesgo, aunque de manera global, este último es superior a 1 (15). Algunos autores encuentran un aumento del riesgo en algunos subgrupos y en determinadas modalidades de los tratamientos sustitutivos (dosis, asociación, duración). Los subgrupos de riesgo son distintos de un estudio a otro y a veces las conclusiones son contradictorias. El meta-análisis del *Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer* (16) analiza 51 estudios y encuentra un leve aumento del riesgo asociado al uso de terapia hormonal sustitutiva, con un RR= 1,14. Este riesgo aumenta con la duración del tratamiento (RR= 1,35 para una duración media de 11 años).

## Demográficos:

La edad es el segundo factor de riesgo más importante del CM (el primero es el sexo femenino). La curva de incidencia aumenta de forma homogénea entre los 30 y los 70 años, aunque presenta una ruptura alrededor de los 45 a 50 años, después de la cual la progresión es menos importante. Por lo tanto, el riesgo de aparición es mayor cuanto más avanzada sea la edad. Sin embargo, existen cánceres de mama que aparecen durante la juventud y entre el 15-20% se diagnostican antes de los 50 años. En estos casos, las mutaciones cromosómicas de tipo *BRCA1* o *BRCA2* son más frecuentes.

## Variaciones geográficas:

Las cifras de incidencia y de mortalidad varían con la situación geográfica. La incidencia más elevada corresponde a América del Norte y a Europa del Norte, mientras que la más baja es la de los países en vías de desarrollo y la de Japón. Igualmente, y gracias a las migraciones geográficas, se ha podido demostrar el papel que los factores vinculados al medio desempeñan en la incidencia de los cánceres de mama. En los Estados Unidos, las japonesas presentan al cabo de dos o tres generaciones el mismo perfil epidemiológico que el resto de la población. Lo mismo ocurre en las personas jóvenes que han emigrado a un país de bajo riesgo, lo cual pone de manifiesto la influencia del medio.

## Estilo de vida:

### a. Alimentación:

Aunque no se han demostrado datos estadísticamente significativos, hay datos que relacionan de forma inversa el riesgo de CM con una dieta rica en grasas insaturadas, frutas, verduras crudas, vitamina A y C, betacarotenos y fitoestrógenos (15).

### **b. Alcohol:**

Existe posiblemente un efecto dependiente de la dosis entre el consumo de alcohol y la incidencia del CM. Al menos dos meta-análisis demuestran esta asociación dosis-dependiente (17) (18).

### **c. Tabaco:**

Aunque hay datos controvertidos, diversos estudios apuntan que el hábito tabáquico se asocia a un mayor riesgo de CM (19) (20).

## **Antecedentes personales**

### **a. Patología mamaria benigna:**

El tipo de lesión determina el riesgo (21), de tal forma que:

- las lesiones no proliferativas no se asocian a un mayor riesgo (quiste, ectasia ductal, metaplasia apocrina, fibrosis, mastitis,...).
- las lesiones proliferativas sin atipias presentan un riesgo aumentado de 1,5-2 veces (adenosis, lesión esclerosante radial y compleja, papiloma, hiperplasia florida,...)
- las lesiones proliferativas con atipias tienen un riesgo 4-5 veces mayor (hiperplasia ductal e hiperplasia lobulillar con atipia, carcinoma lobulillar *in situ*,...).

### **b. Antecedente personal de CM:**

El riesgo de desarrollar un segundo CM es 3-5 veces mayor (22).

### **c. Irradiación previa:**

El efecto nocivo de la exposición a radiación ionizante tiene una relación lineal con la dosis, aumentando el riesgo con el tiempo. Este efecto nocivo es más importante cuando la exposición ha ocurrido durante la infancia y la adolescencia. Un caso particular es el de las personas irradiadas terapéuticamente por un Linfoma Hodgkin.



## C. HISTORIA NATURAL

En general, el CM se origina en el epitelio mamario de la unidad terminal ducto-lobulillar. Según las características histológicas, existen dos tipos principales de tumores malignos de mama de estirpe epitelial: el carcinoma ductal (75-80% de los casos) y el carcinoma lobulillar (10-15%). Existen además tumores mixtos, que asocian ambos tipos histológicos. El resto de neoplasias mamarias corresponden a tipos histológicos menos frecuentes.

El crecimiento del CM se produce por división celular, de tal forma que, según la extensión local, tanto los carcinomas ductales como los lobulillares se subdividen a su vez en dos grupos que corresponden a distinto momento evolutivo del proceso: los carcinomas *in situ* o no invasivos (proliferación maligna epitelial sin invasión de la membrana basal) y los carcinomas invasivos o infiltrantes, en los que las células tumorales han atravesado ya la membrana basal, extendiéndose a tejidos vecinos. Cabe matizar que el carcinoma lobulillar *in situ* (CLIS) se considera realmente una lesión predisponente o de elevado riesgo de desarrollar un CM, más que una auténtico CM.

La diseminación del CM a estructuras vecinas puede ser por vía hematógica o, más frecuentemente, linfática:

- **Metástasis linfáticas:** el 75% del drenaje linfático de la mama se realiza hacia los ganglios axilares homolaterales. El resto se deriva sobre todo de la superficie interna de la mama hacia el territorio de los ganglios mamarios internos. En general, la afectación axilar ganglionar se realiza de manera ordenada siguiendo los niveles de Berg, pero en un 2-3% de los casos esto no ocurre así. Los niveles de Berg se clasifican en:

- Nivel I: ganglios linfáticos inferiores y externos al borde inferior del músculo pectoral menor.
- Nivel II: ganglios linfáticos posteriores al músculo pectoral menor.
- Nivel III: ganglios linfáticos subclaviculares, mediales y por encima del borde superior del músculo pectoral menor.

- **Metástasis sistémicas:** el lugar donde más frecuentemente metastatiza el CM es el hueso (23) (24). Otros órganos diana frecuentes en las metástasis por CM son el pulmón, el hígado, el sistema nervioso central, la pleura y peritoneo.

## 2. DIAGNÓSTICO

### Exploración:

#### a. Autoexploración:

A pesar de que aún se incluye en varios protocolos, su realización no ha demostrado ningún beneficio: no consigue un diagnóstico más precoz ni una menor tasa de mortalidad (25) (26). Además, puede aumentar el número de procedimientos diagnósticos invasivos (27).

#### b. Exploración clínica:

La inmensa mayoría de las guías clínicas destacan la importancia que la exploración física por parte de un especialista entrenado en patología mamaria tiene para el diagnóstico de la recidiva, y se recomienda de manera regular al menos durante los primeros 3-5 años para el seguimiento de pacientes con CM. Sin embargo, no se conoce con exactitud si realmente la exploración física sistemática contribuye a una detección temprana y, consecuentemente, a una mejoría de la supervivencia.

### Análisis y marcadores tumorales:

En ocasiones, se ha propuesto realizar un seguimiento analítico de pacientes con CM tratado. Entre los análisis propuestos con más frecuencia, se encuentran las pruebas de función hepática y los marcadores tumorales, principalmente el antígeno carcinoembrionario (CEA), así como algunos productos relacionados con el gen *MUC-1*, como el antígeno carbohidratado 15.3 (CA-15.3). Sin embargo, según la revisión Cochrane de *Rojas et al.* (28), los programas de seguimiento basados en exámenes físicos regulares y mamografía anual son tan efectivos como los abordajes más intensivos basados en exámenes de laboratorio e instrumentales en cuanto a la detección de recurrencia, de SG y de calidad de vida, por lo que no podría establecerse una recomendación sobre su utilización. La mayoría de

asociaciones científicas han utilizado resultados similares para no recomendar un seguimiento mediante pruebas de laboratorio en estas pacientes.

### Diagnóstico por imagen:

#### a. Mamografía:

Es el mejor método de screening para detectar lesiones de mama. Debe incluir proyecciones craneocaudales y oblicuas medio-laterales de cada mama. El examen mamográfico periódico de mujeres asintomáticas ha demostrado disminuir la mortalidad del CM en un 29%-45% (29) (30). Para mejorar la calidad de los informes de las mamografías, el Colegio Americano de Radiología en colaboración con otras asociaciones desarrolló el sistema *BIRADS* (*Breast Imaging Reporting And Data Systems*), que crea un formato estandarizado para la elaboración de informes, reduce el número de informes ambiguos y facilita la recogida y evaluación de datos. El sistema *BIRADS* cuenta con 6 categorías que se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1: Categorías del sistema <i>BIRADS</i> .	
<b>Categoría 0</b>	Estudio incompleto. Son necesarios más estudios de imagen.
<b>Categoría 1</b>	Estudio normal.
<b>Categoría 2</b>	Hallazgos benignos, sin evidencia de malignidad.
<b>Categoría 3</b>	Hallazgos probablemente benignos, se sugiere seguimiento a los 6 meses para evaluar la estabilidad de las lesiones con baja probabilidad de malignidad. El 98% de estas lesiones son benignas.
<b>Categoría 4</b>	Anormalidad sospechosa de malignidad, se debe considerar la realización de una biopsia. Lesiones de esta categoría tienen una probabilidad de un 30% de ser malignas.
<b>Categoría 5</b>	Anormalidad muy sugerente de malignidad, tiene una morfología característica de cáncer. El valor predictivo positivo (VPP) es del 97%.

**b. Ecografía:**

Aporta información complementaria a la mamografía. Cuando se usan conjuntamente la mamografía y la ecografía mamaria, la exactitud diagnóstica de ambas aumenta, presentando una sensibilidad conjunta mayor del 90% y una especificidad mayor del 98% (31).

**c. Tomosíntesis mamaria:**

Es un nuevo tipo de exploración que intenta mejorar la sensibilidad y especificidad de la mamografía. Consiste en realizar varias radiografías de cada mama desde diferentes ángulos. La mama se ubica de la misma forma que en una mamografía convencional, pero solo se le aplica un poco de presión, lo suficiente como para mantenerla firme durante el procedimiento. El tubo de rayos X se desplaza a través de un arco alrededor de la mama y toma 11 imágenes en un lapso de 7 segundos. Luego, la información se envía a una computadora, donde se reconstruye para generar imágenes tridimensionales de alta definición de toda la mama. Los resultados preliminares de la tomosíntesis digital son prometedores. Los investigadores consideran que esta nueva técnica de diagnóstico por imágenes facilitará la detección del CM en tejidos mamarios densos y hará que la revisión mamaria sea más efectiva.

**d. Resonancia magnética con gadolinio:**

Es la prueba de imagen con mayor sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de lesiones mamarias con sospecha de malignidad. En un meta-análisis reciente se ha reportado una sensibilidad del 90% y una especificidad del 75% (32). De hecho, actualmente se recomienda su realización en el screening de pacientes con riesgo elevado de padecer CM (33) (34) (35).

### **Métodos de toma de muestras guiados por imagen:**

Se estima que en los Estados Unidos se realizan anualmente 1,2 millones de biopsias, de las cuales tan solo alrededor del 20% corresponden a patología maligna (36) (37). Los métodos preferidos para la toma de muestra son la punción-aspiración con aguja fina (PAAF), la biopsia con aguja gruesa (BAG) y la biopsia asistida por vacío. Cuando se encuentran microcalcificaciones u otras lesiones no visibles por ecografía es necesario utilizar un equipo con guía estereotáxica. Cuando la lesión es visible tanto por mamografía como por ecografía, es la ecografía el método de elección para guiar la toma de muestras. La ecografía permite visualizar las lesiones en tiempo real y es costo-efectiva, además de ser más cómoda para las pacientes. La confirmación histológica de malignidad obtenida mediante una biopsia guiada por imagen ofrece dos importantes ventajas sobre la biopsia escisional. La primera es que facilita el planteamiento quirúrgico, y permite una adecuada resección de la lesión con los márgenes pertinentes. La segunda es que permite realizar con mayor exactitud la BSGC, al no alterar de manera significativa el drenaje linfático de la zona (38).

### 3. ASPECTOS ANATOMOPATOLÓGICOS

#### A. CLASIFICACIÓN HISTOPATOLÓGICA

A continuación se recoge parte de la clasificación anatomopatológica de los tumores mamarios publicada en 2012 por la Organización Mundial de la Salud (39):

##### LESIONES PRECURSORAS:

- Carcinoma ductal *in situ* (CDIS)
- Neoplasia lobulillar:
  - CLIS clásico
  - CLIS pleomórfico
  - hiperplasia lobulillar atípica

##### LESIONES PAPILARES

- Carcinoma papilar intraductal
- Carcinoma papilar encapsulado
  - con invasión
- Carcinoma papilar sólido
  - in situ
  - invasivo

##### CARCINOMAS MAMARIOS INVASIVOS

- Carcinoma invasivo *no special type* (NST)
- Carcinoma pleomórfico
  - carcinoma con células gigantes estromales osteoclasto-like
  - carcinoma con características coriocarcinomas
  - carcinoma con características melanocíticas
- Carcinoma lobulillar invasivo
  - carcinoma lobulillar clásico
  - carcinoma lobulillar sólido
  - carcinoma lobulillar alveolar
  - carcinoma lobulillar pleomórfico
  - carcinoma túbulo-lobulillar
  - carcinoma lobulillar mixto
- Carcinoma tubular
- Carcinoma cribiforme
- Carcinoma mucinoso
- Carcinoma con diferenciación apocrina
- Carcinoma con características medulares
  - carcinoma medular
  - carcinoma medular atípico
  - carcinoma invasivo NST con características medulares

- Carcinoma con diferenciación en células en anillo de sello (signet ring cell)
- Carcinoma micropapilar infiltrante
- Carcinomas metaplásicos *no special type*
  - carcinoma adenoescamoso de bajo grado
  - carcinoma metaplásico fibromatosis-like
  - carcinoma de células escamosas
  - carcinoma con células fusiformes
  - carcinoma metaplásico con diferenciación mesenquimal:
    - diferenciación condroide
    - diferenciación ósea
    - otros tipos de diferenciación mesenquimal
  - carcinoma metaplásico mixto
  - carcinoma mioepitelial

Tumores raros:

- Carcinoma con características neuroendocrinas
  - tumor neuroendocrino bien diferenciado
  - carcinoma neuroendocrino pobremente diferenciado (células pequeñas)
  - carcinoma con diferenciación neuroendocrina
- carcinoma secretor
- Carcinoma papilar invasivo
- Carcinoma de células acinares
- Carcinoma mucoepidermoide
- Carcinoma polimorfo
- Carcinoma oncocítico
- Carcinoma rico en lípidos
- Carcinoma de células claras ricas en glucógeno
- Carcinoma sebáceo

## B. ESTADIFICACIÓN TNM:

El “National Comprehensive Cancer Network” (NCCN), en su guía de Práctica clínica en Oncología (“NCCN clinical Practice Guidelines in Oncology Version 1.2016”) (40) recoge la clasificación “TNM Staging System for Breast Cancer” de la “American Joint Committee on Cancer” (AJCC), realizando una estadificación del CM basado en el sistema TNM: tamaño del tumor (T), afectación ganglionar (N) y presencia o no de metástasis a distancia (M).

La clasificación clínica y patológica TNM del CM según la 7ª edición de la AJCC se muestra en la Tabla 2.



TABLA 2. Clasificación TNM del CM según la 7ª edición de la AJCC

CLASIFICACIÓN CLÍNICA Y PATOLÓGICA DEL TUMOR PRIMARIO	
<b>TX</b>	No se puede evaluar el tumor primario.
<b>T0</b>	No hay prueba de tumor primario.
<b>Tis</b>	Carcinoma in situ.
Tis (CDIS)	Carcinoma Ductal In Situ.
Tis (CLIS)	Carcinoma Lobulillar In Situ.
Tis (Paget)	Enfermedad de Paget del pezón que NO está relacionada con el carcinoma invasivo o carcinoma in situ (CDIS o CLIS) en el parénquima mamario subyacente. Los carcinomas del parénquima mamario relacionados con la enfermedad de Paget se clasifican según el tamaño y las características de la enfermedad parenquimal, aunque aún se debería señalar la presencia de la enfermedad de Paget.
<b>T1</b>	El tumor mide $\leq 20$ mm en su mayor dimensión.
T1mi	El tumor mide $\leq 1$ mm en su mayor dimensión.
T1a	El tumor mide $>1$ mm, pero $\leq 5$ mm en su mayor dimensión.
T1b	El tumor mide $>5$ mm, pero $\leq 10$ mm en su mayor dimensión.
T1c	El tumor mide $>10$ mm, pero $\leq 20$ mm en su mayor dimensión.
<b>T2</b>	El tumor mide $>20$ mm, pero $\leq 50$ mm en su mayor dimensión.
<b>T3</b>	El tumor mide $>50$ mm en su mayor dimensión.
<b>T4</b>	El tumor es de cualquier tamaño con extensión directa a la pared pectoral o a la piel (ulceración o nódulos cutáneos).

T4a	Extensión a la pared torácica que no solo incluye adherencia o invasión a los músculos pectorales.
T4b	Ulceración o nódulos satélites ipsilaterales o edema (incluyendo piel de naranja), que no satisface el criterio de carcinoma inflamatorio.
T4c	Ambos: T4a y T4b.
T4d	Carcinoma inflamatorio.
<b>CLASIFICACIÓN CLÍNICA DE LOS GANGLIOS LINFÁTICOS REGIONALES</b>	
<b>NX</b>	No se pueden evaluar los ganglios linfáticos regionales (por ejemplo, extirpación previa).
<b>N0</b>	No hay metástasis regional a los ganglios linfáticos.
<b>N1</b>	Metástasis ipsilateral movable en nivel I o II en los ganglios linfáticos axilares.
<b>N2</b>	Metástasis ipsilateral en nivel I o II en los ganglios linfáticos axilares clínicamente fijos o apelmazados, o Metástasis en los ganglios mamarios internos ipsilaterales detectada clínicamente en <i>ausencia</i> de metástasis en los ganglios linfáticos axilares clínicamente manifiesta.
<b>N2a</b>	Metástasis ipsilateral en nivel I o II en los ganglios linfáticos axilares fijos unos a otros (apelmazados) o a otras estructuras.
<b>N2b</b>	Metástasis solo en los ganglios mamarios internos ipsilaterales detectada clínicamente en <i>ausencia</i> de metástasis clínicamente manifiesta en los ganglios linfáticos axilares en nivel I o II.

<b>N3</b>	<p>Metástasis en uno o varios ganglios linfáticos infraclaviculares ipsilaterales (nivel III axilar) con compromiso de los ganglios linfáticos axilares en nivel I o II, o</p> <p>Metástasis en uno o varios ganglios linfáticos mamarios ipsilaterales internos detectada clínicamente con metástasis manifiesta en los ganglios linfáticos axilares en nivel I o II, o</p> <p>Metástasis en uno o varios ganglios linfáticos supraclaviculares ipsilaterales con compromiso axilar o mamario interno de ganglios linfáticos o sin este.</p>
<b>N3a</b>	Metástasis en uno o varios ganglios linfáticos infraclaviculares ipsilaterales.
<b>N3b</b>	Metástasis en uno o varios ganglios linfáticos mamarios internos ipsilaterales y ganglios linfáticos axilares.
<b>N3c</b>	Metástasis en uno o varios ganglios linfáticos supraclaviculares ipsilaterales.
<b>CLASIFICACIÓN PATOLÓGICA DE LOS GANGLIOS LINFÁTICOS REGIONALES</b>	
<b>pNX</b>	No se pueden evaluar los ganglios linfáticos regionales (por ejemplo, extirpación previa o ausencia de esta para un estudio patológico).
<b>pN0</b>	Ausencia de metástasis en los ganglios linfáticos regionales.
<p><i>Nota:</i> las células tumorales aisladas (CTA) se definen como pequeños grupos de células <math>\leq 0,2</math> mm, de células tumorales simples o una aglomeración de <math>&lt;200</math> células en una sección transversal simple. Las CTA se pueden ubicar mediante pruebas histológicas de rutina o métodos IHQ. Los ganglios que solo contienen CTA se excluyen del recuento total de ganglios positivos para el proceso de clasificación N, pero se deben incluir en el número total de ganglios evaluados.</p>	
<b>pN0(i-)</b>	Ausencia de metástasis en los ganglios linfáticos regionales, CTA negativas.
<b>pN0(i+)</b>	Células tumorales en uno o varios ganglios linfáticos regionales $\leq 0.2$ mm (detectadas mediante H&E o IHQ, incluso CTA).
<b>pN0(mol-)</b>	Ausencia de metástasis por medios histológicos y moleculares.

## INTRODUCCIÓN

pN0(mol+)	Detección de metástasis mediante métodos moleculares, pero no se detecta metástasis en los ganglios linfáticos regionales mediante pruebas histológicas o IHQ.
<b>pN1</b>	Micrometástasis, o Metástasis en 1 a 3 ganglios linfáticos axilares, o Metástasis en ganglios mamarios internos con metástasis detectada mediante biopsia de ganglio linfático centinela, pero sin detección clínica.
pN1mi	Micrometástasis (>0,2 mm o >200 células, pero ninguna >2,0 mm).
pN1a	Metástasis en 1 a 3 ganglios linfáticos axilares, al menos una metástasis >2,0 mm.
pN1b	Metástasis en los ganglios mamarios internos con micrometástasis o macrometástasis detectadas mediante biopsia de ganglio linfático centinela, pero sin detección clínica.
pN1c	Metástasis en 1 a 3 ganglios linfáticos axilares y ganglios linfáticos mamarios internos con micrometástasis o macrometástasis detectadas mediante biopsia de ganglio linfático centinela, pero sin detección clínica.
<b>pN2</b>	Metástasis en 4 a 9 ganglios linfáticos axilares, o Metástasis en ganglios linfáticos mamarios internos detectada clínicamente en ausencia de metástasis en los ganglios linfáticos axilares.
pN2a	Metástasis en 4 a 9 ganglios linfáticos axilares (al menos un depósito tumoral >2 mm).
pN2b	Metástasis en los ganglios linfáticos mamarios internos detectada clínicamente en ausencia de metástasis en los ganglios linfáticos axilares.

<b>pN3</b>	<p>Metástasis en <math>\geq 10</math> ganglios linfáticos axilares, o</p> <p>Metástasis en los ganglios linfáticos infraclaviculares (nivel III axilar), o</p> <p>Metástasis en los ganglios linfáticos mamaros internos ipsilaterales detectada clínicamente en presencia de <math>\geq 1</math> ganglios linfáticos axilares positivos de nivel I o II, o</p> <p>Metástasis en <math>&gt;3</math> ganglios linfáticos axilares y ganglios linfáticos de mamaria interna con micrometástasis o macrometástasis detectadas mediante biopsia de ganglio linfático centinela, pero sin detección clínica, o</p> <p>Metástasis en los ganglios linfáticos ipsilaterales supraclaviculares.</p>
<b>pN3a</b>	<p>Metástasis en <math>\geq 10</math> ganglios linfáticos axilares (por lo menos un depósito tumoral <math>&gt;2,0</math> mm), o</p> <p>Metástasis en los ganglios infraclaviculares (ganglio axilar de nivel III).</p>
<b>pN3b</b>	<p>Metástasis en ganglios mamaros internos detectada clínicamente en presencia de metástasis en los ganglios linfáticos axilares, o</p> <p>Metástasis en <math>&gt;3</math> ganglios linfáticos axilares y ganglios linfáticos mamaros internos con micrometástasis o macrometástasis detectadas mediante biopsia de ganglio linfático centinela, pero sin detección clínica.</p>
<b>pN3c</b>	Metástasis en ganglios linfáticos supraclaviculares ipsilaterales.
<b>METÁSTASIS A DISTANCIA</b>	
<b>M0</b>	No hay prueba clínica ni radiográfica de metástasis a distancia.
<b>cM0(i+)</b>	No hay prueba clínica ni radiográfica de metástasis a distancia, pero sí detección de depósitos de células tumorales moleculares o microscópicas en la sangre circulante, médula ósea u otros tejidos ganglionares que no son regionales de $\leq 0.2$ mm en pacientes sin signos ni síntomas de metástasis.
<b>M1</b>	Hay metástasis a distancia según lo determinan medios clínicos o radiográficos clásicos o por demostración histológica.

### C. FACTORES PRONÓSTICOS

El cambio en la actitud terapéutica del CM en los últimos años está haciendo que también cambie la visión y el uso que tenemos de los factores pronósticos de esta neoplasia. Ya no se trata tanto de decidir qué casos se tratarán o no con terapia sistémica, ya que se hará con la mayoría de ellos, bien con tratamiento hormonal o quimioterapia (QT), sino de qué terapia es la más adecuada. De esta manera, el concepto de “factores predictivos” se va imponiendo al de “factores pronósticos” en un intento de poder predecir cuáles son los tumores que responderán a un medicamento en particular y no a otro. Aun así, los parámetros clásicos histopatológicos siguen siendo plenamente vigentes y están siendo actualmente complementados con otros moleculares. Su bajo coste y amplia experiencia en la clínica los hacen marcadores muy válidos en la práctica clínica rutinaria. En el futuro, el tratamiento del CM y otros tipos de neoplasias se basará en el uso de terapias dirigidas a dianas específicas de células tumorales, lo que incrementará su eficacia y disminuirá los efectos adversos de la actual QT.

Actualmente, los factores pronósticos aceptados y utilizados en la práctica clínica son:

#### **a. Estadio tumoral:**

Las múltiples combinaciones posibles de los distintos parámetros contemplados en la clasificación TNM se agrupan en estadios pronósticos que se muestran en la Tabla 3.

TABLA 3. Clasificación del CM según estadios pronósticos

ESTADIO	T	N	M
<b>0</b>	Tis	N0	M0
<b>IA</b>	T1	N0	M0
<b>IB</b>	T0	N1mi	M0
	T1	N1mi	M0
<b>IIA</b>	T0	N1	M0
	T1	N1	M0
	T2	N0	M0
<b>IIB</b>	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
<b>IIIA</b>	T0	N2	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1	M0
	T3	N2	M0
<b>IIIB</b>	T4	N0	M0
	T4	N1	M0
	T4	N2	M0
<b>IIIC</b>	Cualquier T	N3	M0
<b>IV</b>	Cualquier T	Cualquier N	M1

### **b. Tipo histológico:**

Los tipos histológicos más habituales son: el carcinoma ductal infiltrante (CDI) - carcinoma invasivo NST en la última clasificación OMS- y el carcinoma lobulillar infiltrante (CLI). A igual estadio TNM, ambos tienen un pronóstico similar. Respecto a ellos, podemos distinguir otros tipos histológicos de mejor o peor pronóstico como, por ejemplo:

- Mejor pronóstico (rara afectación axilar):

Carcinoma papilar

Carcinoma tubular

Carcinoma mucinoso o coloide

Carcinoma medular

Carcinoma adenoide quístico

- Peor pronóstico:

Carcinoma inflamatorio

Carcinoma de células en anillo de sello

Carcinoma micropapilar

Carcinosarcoma

### **c. Grado histológico:**

Generalmente se usa el sistema de *Bloom-Richardson* modificado, el cual se basa en el estudio de tres parámetros: la formación de túbulos, el grado nuclear, y el número de mitosis, pudiendo tener cada uno un valor de 1 a 3. Posteriormente se suman las puntuaciones obtenidas con cada parámetro y se clasifica el tumor por grados. Estos grados, de mejor a peor pronóstico, son:

- Grado I: 3, 4 ó 5 puntos.
- Grado II: 6 ó 7 puntos.
- Grado III: 8 ó 9 puntos.



**d. Invasión linfovascular:**

En su proceso de invasión local del estroma, las células neoplásicas pueden encontrar y permear las paredes vasculares de vasos sanguíneos y, principalmente, linfáticos. La presencia de invasión vascular hace más probable la existencia de afectación ganglionar regional.

**e. Receptores hormonales:**

La determinación del estatus hormonal del tumor tiene gran trascendencia porque además de ser un factor pronóstico es un factor predictivo pues permite diferenciar aquellas pacientes que tienen más probabilidades de responder a la terapia hormonal. Aproximadamente un 75% de los tumores expresan receptores hormonales (41), y de ellos, más de la mitad responderán al tratamiento hormonal si los receptores de estrógenos (RE) o los receptores de progesterona (RP) son positivos, frente a un 8% de respuesta cuando ambos son negativos (42) . Cuando se da la coincidencia de positividad tanto para RE como para RP la probabilidad de respuesta a la terapia hormonal es cercana al 90% (41).

**f. Cinética celular (proliferación):**

La agresividad biológica depende en gran medida de la velocidad de crecimiento de los tumores y, por tanto, de su capacidad proliferativa. En un intento de evaluar esta propiedad como criterio pronóstico se han utilizado diferentes marcadores y parámetros, que tienen en común la capacidad de detectar células en fases proliferativas, habitualmente relacionándose sus valores elevados con una peor evolución:

-*PCNA* (del inglés "*proliferating cell nuclear antigen*"): proteína detectable en células en división. Se considera una forma indirecta, y por tanto imperfecta, de evaluar la proliferación.

-*Ki67*: antígeno presente en las células que no están en reposo, aunque se desconoce su naturaleza exacta. Parece haber correlación entre el porcentaje de

células positivas para este antígeno y la agresividad del tumor y la probabilidad de afectación ganglionar (43). Existe controversia pero en general se acepta un índice alto de proliferación cuando este porcentaje es  $\geq 20\%$  (44). Este marcador está adquiriendo nueva importancia al utilizarse para definir, de forma indirecta, los fenotipos moleculares A y B, así como la conveniencia de usar QT en tumores con otros parámetros de bajo riesgo biológico.

*-Determinación de fase S por citometría de flujo:* método muy objetivo de evaluar la actividad proliferativa, pero no disponible en todas las instituciones.

### **g. Determinación del estado de expresión del oncogén HER2/neu:**

Receptor de membrana relacionado con la proliferación y motilidad celular. Se sobreexpresa en un 10-20% de los CM (43) (45). El análisis de esta sobreexpresión se utiliza como factor predictivo de respuesta terapéutica al uso de anticuerpos antiHer2 neu (46).

### **h. Otros:**

La lista de factores con supuesta capacidad pronóstica en el CM es muy larga (p53 (47) (48), catepsinas (49), receptores de laminina (50), angiogénesis tumoral (51), etc, siendo mayor la rapidez de su aparición que la determinación de su verdadera utilidad práctica, limitada en la mayoría de ellos por su dependencia de otros factores.

Está interrumpiendo con fuerza en el campo de la investigación del cáncer el papel más que crucial de las células madre como dianas de la transformación neoplásica y de las futuras terapias antineoplásicas (52).

Finalmente, la posibilidad de detectar ácidos nucleicos libres o células circulantes en sangre abre grandes perspectivas a la monitorización de las neoplasias mamarias y de otras muchas localizaciones (53) (54).

## D. CLASIFICACIÓN MOLECULAR:

El desarrollo de las técnicas de biología molecular ha permitido estudiar las características moleculares de la enfermedad mediante la expresión diferencial de determinados genes, en tejidos sanos y tejidos tumorales. Los análisis moleculares de la expresión genética han abierto una nueva vía de conocimiento en el complicado comportamiento de las células cancerosas y han permitido identificar posibles genes asociados al comportamiento de las células tumorales.

La incorporación de las técnicas moleculares a la práctica clínica ha facilitado el diagnóstico de un amplio número de enfermedades originadas por alteraciones genéticas, y están siendo utilizadas en otros campos además del diagnóstico, incorporándose como herramientas importantes dentro del campo pronóstico y predictivo. El conocimiento de las características genéticas de cada enfermedad puede ayudar en la identificación de aquellos pacientes susceptibles de responder adecuadamente a determinados tratamientos y de esta manera, poder decidir la terapia más adecuada en cada caso. Por consiguiente, los avances en la genética humana están produciendo un impacto en la atención sanitaria, que tiende a ofrecer una atención más personalizada con actuaciones preventivas y terapéuticas adaptadas al perfil genético de cada individuo.

En el caso del CM, la incorporación de las técnicas genéticas a la práctica clínica ha puesto de manifiesto la existencia de diferentes subtipos moleculares de cáncer de mama. Así, se han identificado 3 subtipos moleculares de cáncer: luminal, HER2 y basal (55). El subtipo luminal caracterizado por la expresión de genes receptores de hormonas (RE+ y/o RP+) se clasifica a su vez en dos, luminal A y luminal B. Esta identificación molecular parece ayudar a la hora de conocer el pronóstico de la enfermedad y la respuesta a tratamiento (56) (57).

La clasificación molecular establecida por el consenso internacional de expertos de St. Gallen en 2013, diferencia el subtipo luminal A y B en función del valor de Ki67 considerando que en el subtipo Luminal A los valores de Ki67 son bajos. Aunque la mayoría de los expertos consideraron un que un valor de Ki67 de  $\geq 20\%$

indicaba valores altos de Ki67, existe controversia entre los expertos en cual debe de ser el punto de corte que diferencie entre valor bajo y alto de Ki67. Además, se diferenciaron dos tipos de Luminal B, un tipo HER2 positivo y otro tipo HER2 negativo (58).

TABLA 4. Clasificación molecular del CM (58).

	SUBTIPOS MOLECULARES		
	Luminal	Her2	Basal
Perfil de expresión génica	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Tipo A:</b> RE y RP (+), Her2 (-) y Ki67 bajo.</li> <li>• <b>Tipo B:</b> RE (+), Her2 (-), y RP (-) y/o Ki67 alto.</li> <li>• <b>Tipo B-Her2:</b> luminal B con Her2 (+).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• RE y RP (-), Her2 (+)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• RE y RP (-), Her2 (-)</li> <li>• Además, CK 5/6<sup>1</sup> (+) y/o EGFR<sup>2</sup> (+)</li> </ul>
Características Clínicas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 70% CM</li> <li>• Luminal B tiende a ser de mayor grado histológico que Luminal A</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 15% CM</li> <li>• En muchos casos tumores de grado histológico alto y ganglios clínicamente afectados</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 15% CM</li> <li>• Se denomina triple negativo</li> <li>• Más frecuente en mujeres afroamericanas</li> </ul>
Respuesta a tratamiento	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Responden a HT<sup>3</sup></li> <li>• Respuesta variable a QT (mayor respuesta el tipo B)</li> <li>• El tipo A tiene mejor pronóstico que el B</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Responden a trastuzumab y a QT basada en antraciclina</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• No responden a HT ni a trastuzumab.</li> </ul>
Pronóstico	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bueno (luminal A); malo (luminal B)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Generalmente malo</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Generalmente malo</li> </ul>

<sup>1</sup>CK= citoqueratina, <sup>2</sup>EGFR= receptor del factor de crecimiento endotelial, <sup>3</sup>HT= hormonoterapia

Como en la práctica clínica no es posible realizar el estudio molecular de todos los tumores, se ha desarrollado un modo de clasificación subrogada de los mismos a partir de los datos de sus características IHQ, que, si bien sabemos que no se corresponde de forma exacta, sí nos da una aproximación.

Las pruebas genómicas de carácter pronóstico y/o predictivo en cáncer diseñadas para estimar el riesgo de recurrencia a distancia de la enfermedad y/o predecir con la mayor precisión posible la respuesta a la terapia adyuvante, tienen como finalidad la estratificación o clasificación de los pacientes en diferentes subtipos genéticos que recibirían un tratamiento de manera individualizada y más adecuada a cada uno de ellos.

Varias de estas pruebas pronósticas están siendo comercializadas e introducidas en la práctica clínica. Las primeras firmas genéticas desarrolladas, Oncotype DX® y MammaPrint®, se basaron en la expresión diferencial, en células sanas y tumorales, de un determinado número de genes (21 y 70 respectivamente) (59) (60). Tanto MammaPrint® (61) (62) (63) (64) (65) (66) (67) como Oncotype DX® (68) (69) (70) (71) (72) (73) han sido validadas en diferentes estudios en todo el mundo que demuestran su utilidad a la hora de predecir la SG y el riesgo de metástasis a distancia en pacientes con cáncer de mama en fase inicial. Ayudan por tanto en la práctica clínica diaria a la toma de decisiones terapéuticas seleccionando a aquellas pacientes que se beneficiarían de QT como tratamiento adyuvante o neoadyuvante.

Actualmente, ya están disponibles y en fase de introducción una segunda generación de pruebas genómicas, entre las que se encuentran EndoPredict® (74) (75) (76) y Prosigna™ (77) (78) (79). Estas pruebas se denominan de segunda generación ya que combinan los resultados de expresión génica (concretamente estudian 12 y 50 genes respectivamente) con parámetros clínico-patológicos, en un intento de afinar y mejorar la estimación del riesgo de recaída de los pacientes. Una característica adicional de estas pruebas de segunda generación es la descentralización de su realización. En el caso de las pruebas genómicas Oncotype

DX® y MammaPrint® las muestras tumorales son analizadas en los laboratorios de referencia propiedad de las compañías que las han desarrollado localizados en Estados Unidos y Holanda, respectivamente. Por el contrario, EndoPredict® y Prosigna™ son pruebas diseñadas para poder ser realizadas en laboratorios locales disminuyendo de esta manera el tiempo de espera del resultado y la posibilidad de realizar la repetición de la prueba en caso de duda. Sin embargo, dada la naturaleza de las pruebas, esta descentralización lleva implícita la formación específica del personal en los laboratorios, así como el mantenimiento de los equipos.

## 4. TÉCNICA OSNA

### A. INTRODUCCIÓN:

A lo largo de los años se han hecho grandes esfuerzos en el área del GC por parte de los patólogos, no sólo para conseguir la máxima sensibilidad y especificidad diagnósticas sino también para conseguir que tanto la cirugía sobre la mama como la cirugía sobre la axila pudieran realizarse en un solo tiempo quirúrgico, lo que implica la necesidad de que el diagnóstico intraoperatorio sea, a su vez, el diagnóstico definitivo.

En una encuesta realizada por el *European Working Group for Breast Screening Pathology* (EGWBSP) (80) y en la que participaron 240 Servicios de Patología, se evidenció la existencia de más de 123 protocolos de estudio citológico o histológico diferentes. El protocolo más frecuente incluía el estudio de 6 cortes histológicos separados entre sí por 150 µm. Se observó que el diagnóstico del GC no solo era protocolo-dependiente sino también patólogo-dependiente ya que, en muchos casos, los criterios diagnósticos eran escasamente estandarizables y reproducibles. Ello se mostró de especial relevancia para las micrometástasis y las CTA, ya que las definiciones eran poco claras y difíciles de aplicar en muchos de los casos. Además, los criterios americanos y europeos para el diagnóstico de metástasis no fueron totalmente coincidentes (81). Todo ello generó grandes dificultades para la obtención de conclusiones acerca de la validez del sistema TNM de estadificación para los distintos tipos de metástasis y acerca de sus diferencias pronósticas.

La aparición de una nueva técnica molecular llamada OSNA en la última década marcó el inicio de una nueva etapa en la historia del GC en el CM. Esta técnica permite el diagnóstico intraoperatorio del GC en su totalidad, eliminando la necesidad de segundas intervenciones para la LA (4).

### B. MÉTODO:

La técnica molecular *OSNA* consiste en una PCR cuantitativa con transcriptasa inversa que amplifica a tiempo real el ARNm de la CK19 por un procedimiento isotérmico a 65°C, específico y sensible denominado *RT-LAMP* (*Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification*). La prueba cuantifica la cantidad de ARNm de la CK19 y lo correlaciona directamente con el tamaño de la metástasis. La citoqueratina 19 (CK19) es un buen marcador con una sensibilidad del 98,2% (4) (82) (83) (84). El tiempo de reacción es de 16 minutos, con un tiempo total de unos 30 minutos desde la preparación del ganglio hasta la obtención de resultados. Tiene capacidad para analizar el ganglio completo y es un método semicuantitativo, es decir, es capaz de discriminar entre:

- macrometástasis (++) :  $\geq 5.000$  copias de ARNm-CK19/ $\mu$ L.
- micrometástasis (+) :  $\geq 250$  pero  $< 5.000$  copias de ARNm-CK19/ $\mu$ L.
- ausencia de metástasis (-) :  $< 250$  copias de ARNm-CK19/ $\mu$ L.

Para evitar amplificaciones inespecíficas y por consiguiente la aparición de falsos positivos, la prueba OSNA utiliza 6 cebadores o “*primers*” distintos, precipita el ADN genómico a bajo pH y utiliza una temperatura de reacción isotérmica a 65°C. Además, esta técnica no requiere la purificación previa del ARN.

La amplificación se produce en un detector de amplificación génica *RD-100i* (Sysmex®) (85). El pirofosfato de magnesio producido en la reacción de amplificación precipita cuando su concentración alcanza la saturación y permite la monitorización de la amplificación de ARNm-CK19/ $\mu$ L basada en la turbidez producida por la reacción, medida cada 6 segundos (86). El equipo de amplificación RD-100i incluye cinco cubetas de amplificación, una para los controles positivo y negativo y las otras cuatro para las muestras problema. El equipo permite la visualización de la curva de amplificación en tiempo real, así como la de los datos de cada caso estudiado expresados en número de copias. (Figura 1).



Se eligió el ARNm-CK19 como marcador después de comparar su sensibilidad y especificidad con la de otros marcadores tales como FOXA 1, SPDEF, CEA, MGB1, TAQSTD2 and MUC1, correlacionándose el número de células tumorales con el número de copias de ARNm-CK19/ $\mu$ L y discriminando los casos positivos de los negativos.

Para calcular los puntos de corte en el número de copias de ARNm-CK19/ $\mu$ L entre CTA, micrometástasis y macrometástasis, se estudiaron secciones alternantes de ganglio linfático normal y metastásico y se correlacionó el número de células tumorales de agregados de 0,2 y 2 mm con el número de copias de ARNm-CK19/ $\mu$ L de cada uno de ellos calculado a partir del número de copias de ARNm-CK19 de una célula tumoral (4):

- El punto de corte más bajo (L) fue determinado por análisis estadístico del número de copias obtenido del estudio OSNA de ganglios linfáticos histológicamente negativos de pacientes N0. Valores de expresión inferiores a L (250 copias de ARNm-CK19) fueron considerados negativos. Casos identificados como negativos por el sistema pero con un número de copias entre 100 y 250 fueron considerados como CTA y aparecen referidos como L (-). Por debajo de 100 copias, fueron considerados negativos.

- El punto de corte para macrometástasis (H) se estableció a partir del número de copias de ARNm-CK19/ $\mu$ L expresado en un foco tumoral de 2 mm (87). Valores  $\geq$  a 5000 copias se expresan como (++) y corresponden a macrometástasis.

- Valores comprendidos entre L y H, es decir, entre 250 y 5000 copias de ARNm-CK19/ $\mu$ L corresponden a micrometástasis y se expresan como (+).

### C. APORTACIONES/VENTAJAS DEL OSNA:

El método OSNA ha consolidado la validez del diagnóstico intraoperatorio del GC, definida por una alta sensibilidad (82,7-98,2%) y especificidad diagnósticas (94,8-97,7%) y por la ausencia de LAs diferidas (88).

Otra de las grandes aportaciones del OSNA es la estandarización diagnóstica conseguida al eliminar la variabilidad interobservador y unificar en un solo protocolo las distintas estrategias diagnósticas (88).

Por otra parte, el método OSNA tiene la ventaja de que se puede analizar el ganglio completo, lo que disminuiría la proporción de falsos negativos, mientras que en la histopatología para disminuir dicha proporción sería necesario analizar múltiples niveles del ganglio, lo que conllevaría mayor consumo de tiempo y recursos.

La histopatología se basa en el aspecto morfológico de las células malignas y no de la expresión genética, que es sin duda más preciso, más cuantificable y en principio menos propenso a la variación entre los observadores.

En resumen, el método OSNA es un método estandarizado con alto grado de automatización, objetivo, sensible, específico, con capacidad de calcular con exactitud el volumen de las metástasis, intraoperatorio evitando segundas intervenciones y que puede utilizar el ganglio entero, disminuyendo de este modo los sesgos de muestreos.

### D. LIMITACIONES:

Como cualquier técnica diagnóstica, el método OSNA puede tener ciertas limitaciones. La más importante de ellas se relaciona con los carcinomas de mama que no expresan la CK19 y cuyas metástasis, por tanto, podrían no ser detectadas por la reacción de amplificación de la CK19. La tasa publicada de carcinomas de mama CK19 negativos es aproximadamente del 2% (83). Sin embargo, *Alvarenga et*

*al.* demuestran en un estudio basado en técnicas de matrices de tejido y posterior estudio de secciones histológicas que son muy pocos los carcinomas de mama que no expresan la CK19, correspondiendo, fundamentalmente, a los carcinomas metaplásicos (89). *Alvarenga* atribuye la ausencia de positividad IHQ de ciertos tumores a la heterogeneidad inherente a las células neoplásicas, que pueden ser negativas en la BAG, pero positiva en otras áreas del tumor no siendo pues, necesariamente, causa de falso negativo en el diagnóstico del GC.

Las inclusiones epiteliales benignas podrían teóricamente constituir una causa posible de falsos positivos OSNA. A pesar de que conceptualmente ésta es una idea posible, en la práctica, las inclusiones epiteliales benignas constituyen un fenómeno muy poco frecuente, consistiendo la mayoría de las veces en acúmulos de células epiteliales muy pequeños que no alcanzan el tamaño suficiente para sobrepasar en número de copias el rango de las micrometástasis y no constituyendo, por tanto, indicación de ningún gesto quirúrgico añadido.

Algunos patólogos han mostrado ciertas reticencias respecto a la pérdida de información en cuanto a la localización y a la evaluación morfológica de las lesiones inherente al método OSNA y alegan que la homogeneización del ganglio puede conllevar pérdida de información en algunos casos al no poder evaluar ciertos parámetros de valor pronóstico como la infiltración capsular. Sin embargo, puede realizarse la disección del tejido adiposo periganglionar para su inclusión en parafina y posterior estudio microscópico para descartar infiltración tumoral

## 5. TRATAMIENTO

### A. TRATAMIENTO QUIRÚRGICO LOCAL

La mastectomía ha sido el tratamiento del CM desde su introducción por *Halsted y Meyer* en 1890 hasta hace poco más de 40 años. Tras la publicación de *William Steward Halsted* sobre su experiencia en el *Johns Hopkins Hospital*, la mastectomía radical se convirtió en el tratamiento estándar para el CM (90) y su hegemonía duró casi 80 años. *Halsted* consiguió una tasa de control de recidiva locorregional del 20% sin mortalidad operatoria. Obtuvo una supervivencia del doble que la de pacientes no tratadas, con una supervivencia a los 5 años del 40% a pesar de no disponer de ningún tratamiento adyuvante. La teoría de *Halsted* sostenía que el cáncer se extendía de forma ordenada desde la mama a los ganglios linfáticos. La mastectomía radical se asociaba a una elevada morbilidad por las grandes heridas abiertas que curaban por granulación, un linfedema casi constante y una discapacidad general.

Desde entonces ha experimentado una evolución considerable, y se han introducido diversas variaciones:

- *Patey* en 1948 describe una mastectomía más conservadora, que reseca el pectoral menor y practica una disección completa de los ganglios axilares, pero respetando el pectoral mayor,
- *Madden* en 1965 conserva tanto el músculo pectoral mayor como el menor, con extirpación de los ganglios linfáticos axilares de los niveles I y II.

La teoría de que el cáncer se diseminaba por extensión directa y que las células cancerosas no se propagaban a través de la circulación estaba llegando a su fin, y así en los años 70 *Fisher et al.* (91) demostraron que el CM es una enfermedad sistémica. El ensayo fundamental *NSABP B-04* (92) comparó de forma aleatorizada la mastectomía radical con la mastectomía total, con o sin radioterapia (RT), y los

resultados no mostraron diferencias en la supervivencia entre las ramas del estudio. *Veronesi et al.* (93) compararon la mastectomía radical y la cuadrantectomía con disección axilar e irradiación y tampoco encontraron diferencias en las supervivencias general y específica del CM. El ensayo *NSABP B-06* (94) y otros (95) han demostrado una supervivencia a largo plazo equivalente entre el tratamiento conservador de la mama y la mastectomía.

Por ello, el tratamiento conservador de la mama, seguida de irradiación completa de la misma, se ha convertido en el tratamiento de elección de las mujeres con CM en estadio precoz, si bien la mastectomía sigue siendo necesaria en algunas ocasiones

## **Mastectomía:**

### **a. Indicaciones:**

Son las contraindicaciones de la cirugía conservadora de la mama. A continuación se recogen las directrices de la *NCCN* sobre las contraindicaciones del tratamiento conservador del CM (96).

- contraindicaciones absolutas:
  - antecedente de irradiación previa del tórax o de la mama.
  - irradiación requerida durante el embarazo.
  - microcalcificaciones malignas difusas.
  - incapacidad para obtener margen quirúrgico negativo.
- contraindicaciones relativas:
  - enfermedad activa del tejido conectivo que afecta a piel.
  - tumor > 5 cm.
  - márgenes focalmente positivos.
  - mujeres < 35 años o premenopáusicas con mutación BRCA conocida.

### **b. Técnica actual:**

- *mastectomía radical* modificada de *Madden*: conserva los músculos pectorales mayor y menor y extirpa la fascia del músculo pectoral mayor y los ganglios linfáticos axilares de los niveles I y II. La extirpación de los ganglios de nivel III se reserva para cuando éstos están clínicamente afectados. Se realiza en los casos de enfermedad locorregional avanzada sin metástasis a distancia y en casos de enfermedad recidivante avanzada después de cirugía conservadora.
- *mastectomía total o simple con/sin reconstrucción inmediata*: extirpa toda la glándula mamaria y, en general, el complejo areola-pezones (CAP) a lo largo de los límites anatómicos de la mama junto con la fascia del músculo pectoral mayor. Los colgajos cutáneos con un grosor mayor de 5 mm se asocian a un importante tejido mamario residual. La resección del músculo se reserva sólo para aquellos casos con invasión tumoral macroscópica.
- *mastectomía total con conservación de piel y reconstrucción inmediata*: descrita por primera vez por *Toth y Lappert* en 1991 (97). Extirpa el CAP y el parénquima mamario dejando la mayor parte posible de piel para que el cirujano plástico la use como envoltorio de la reconstrucción. Las revisiones llevadas a cabo por numerosos equipos han constatado la seguridad oncológica de esta cirugía, con unas tasas de recidiva local similar a las de aquellas pacientes que se han sometido a mastectomía sin conservación de piel. La serie más grande con un intervalo de seguimiento medio de 78 meses mostró una tasa de recidiva local del 5,5% (98). Las indicaciones actuales aceptadas para la mastectomía preservadora de piel son:
  - T0, 1 y 2.
  - tumores multicéntricos.
  - carcinoma invasor asociado a carcinoma intraductal extenso.

- T1-2 con criterio de cirugía conservadora, pero de difícil seguimiento clínico y radiológico.
- tumor central que obligue a la extirpación del CAP.
- mutación BRCA.
- pacientes con biopsias múltiples y difícil seguimiento.
- *mastectomía con preservación del CAP*: no se recomienda en lesiones retroareolares a menos de 1-2 cm del CAP, en presencia de calcificaciones segmentarias alargadas desde el CAP, en tumores mayores de 3 cm, o si la biopsia intraoperatoria de la base del pezón es positiva. El grupo de Milán administra RT intraoperatoria en el CAP con el fin de disminuir la tasa de recidivas. La mayoría de series informan de pocas recidivas, sin embargo, la tasa de necrosis es elevada (11%) y la falta de sensibilidad en el CAP es frecuente. Es necesario plantear estudios aleatorizados y resultados a largo plazo.

### c. Factores de riesgo de recidiva local

Puede aparecer una recidiva local tanto en los casos de cirugía conservadora como tras una mastectomía, si bien en este último caso el riesgo es menor (entre el 3-5% en el CM en estadio precoz). La mayoría de recidivas post-mastectomía afectan a la piel y al tejido subcutáneo (frente a la localización en la pared torácica y el músculo).

Como factores de riesgo para la aparición de una recidiva local se han descrito:

#### ▪ relacionados con la paciente:

- a menor edad, mayor riesgo de recidiva (99).
- Presencia de mutación BRCA. Sin embargo, en mujeres que han sido ooforectomizadas, la tasa de recidiva sería la misma que en mujeres no portadoras de esta mutación (100).

- **relacionados con la enfermedad:**

- márgenes quirúrgicos afectos o cercanos (101).
- otros factores: enfermedad multicéntrica, histología desfavorable, invasión del espacio linfovascular, estadio avanzado de la enfermedad (ej. ganglios afectos), tumores “triple negativos” y tumores RE negativos con Her2 positivo (102).

- **relacionados con el tratamiento:**

- los tratamientos sistémicos y la sobreimpresión con RT del lecho tumoral después de la irradiación completa de la mama disminuyen el riesgo de recidiva (103).

## **B. TRATAMIENTO QUIRÚRGICO REGIONAL (evaluación ganglionar)**

El estado de los ganglios linfáticos regionales continúa siendo uno de los factores pronósticos más importantes en pacientes con CM en estadios precoces. El estudio histológico de los ganglios es el método más preciso para conocer el grado de diseminación tumoral ganglionar. La LA ha sido tradicionalmente parte del manejo estándar en estas pacientes. Las ventajas de su realización incluyen el control de la enfermedad (impacto en recurrencia local y supervivencia), su valor pronóstico y su papel decisivo a la hora de administrar un tratamiento adyuvante posterior. Sin embargo, la disrupción anatómica que implica no está exenta de complicaciones tales como linfedema, lesión vásculo-nerviosa e incapacidad funcional en la movilidad del hombro, así como alteraciones sensoriales.

Hoy en día, cuando los ganglios axilares están afectos clínica o radiológicamente (confirmado con técnicas de estudio histológico como la PAAF o mediante BAG) la LA sigue siendo la técnica estándar. Sin embargo, cuando no hay evidencia clínica ni ecográfica de afectación axilar, la técnica estándar para conocer el estado de los ganglios linfáticos regionales es la realización de una BSGC. La introducción del concepto de GC y su aplicación clínica nos permite conocer dicho



estatus ganglionar sin necesidad de realizar una LA sistemática, reduciéndose la morbilidad asociada a este abordaje quirúrgico, de tal forma que, en el caso de que este ganglio sea negativo, no se requerirá extirpar el resto de ganglios. Así, por ejemplo, la tasa de linfedema tras la realización de una BSGC al año es del 2% mientras que tras la realización de una LA es del 13%.

La BSGC tiene, por tanto, más que una finalidad terapéutica, un gran valor pronóstico y decisivo en la futura planificación terapéutica.

## C. TRATAMIENTO LOCORREGIONAL CON RADIOTERAPIA

### Tras cirugía conservadora:

La cirugía conservadora debe ir siempre asociada a RT para poder así alcanzar una SG comparable a la realización de mastectomía (104).

Los factores pronósticos para el control local de la enfermedad son: dosis de RT administrada, edad, márgenes afectos o menores de 2 mm, tamaño del tumor, presencia de carcinoma intraductal, estado ganglionar, grado histológico, multifocalidad, permeación vascular y/o linfática, invasión perineural y CM “triple negativo”.

El esquema de RT estándar hoy en día se basa en esquemas de hipofraccionamiento (aumenta la dosis por fracción, disminuyendo el tiempo total de tratamiento). La mama se puede irradiar por completo mediante esquemas clásicos de RT externa ( $\pm$  sobreimpresión o *boost* en lecho tumoral) o, si nos encontramos en una situación de bajo riesgo, se puede irradiar una parte de la mama (irradiación parcial de la mama o IPM). Concretamente se irradia el lecho quirúrgico que es donde se producen la mayoría de las recurrencias locales. La IPM sería una irradiación hipofraccionada acelerada. Los esquemas más concentrados permiten un tratamiento rápido que no interfiere en la vida cotidiana, incrementa la calidad de vida de las pacientes y disminuye los costes de la irradiación en el tratamiento conservador. La *American Society for Radiation Oncology (ASTRO)* en

el año 2009 (105) y el *Groupe Européen de Curiethérapie-European Society for Therapeutic Radiology and Oncology* (GEC-ESTRO) en el año 2010 (106), han definido las características de bajo riesgo para recomendar el uso de IPM. Estas características se muestran en la Tabla 5.

TABLA 5.	ASTRO	GEC-ESTRO
	"Suitable"	"Low Risk"
<b>Factores del paciente</b>		
Edad	≥ 60 años	> 50 años
Mutaciones BRCA1/2	No presentes	–
<b>Factores anatomopatológicos</b>		
Tamaño del tumor	≤ 2 cm (T1)	≤ 30 mm (T1-2)
Márgenes	Negativos (≥ 2 mm)	Negativos (≥ 2 mm)
Grado	Cualquiera	Cualquiera
RE	Positivos	Cualquiera
ILV	No permitido	No permitido
Multicentricidad	Unicéntrico	Unicéntrico
Multifocalidad	Unifocal	Unifocal
Histología*	CDI	CDI
Carcinoma intraductal (CID) puro	No permitido	No permitido
Componente CID extenso	No permitido	No permitido
CLIS asociado	Permitido	Permitido
<b>Factores ganglionares</b>		
Estado N**	pN0 (i–, i+)	pN0
<b>Factores terapéuticos</b>		
Tratamiento neoadyuvante	No permitido	No permitido

\*Mucinoso, tubular, medular y coloide permitidos.

\*\*Basado en BSGC o en LA.

El área axilar solamente se irradiará en el caso de que no se haya realizado vaciado axilar o éste haya sido insuficiente (<10 ganglios sin estudio de GC) o exista enfermedad macroscópica residual, para evitar el riesgo de braquiedema. El estudio Z0011 (*Giuliano et al.* 2011) (107) ha implicado un cambio en la estrategia de la RT tras la cirugía conservadora del CM. Analiza pacientes tratadas con cirugía conservadora y GC con RT y tratamiento sistémico posteriores en las que, a pesar de tener afectados hasta 2 ganglios, no se realiza LA. Concluye que el no realizar vaciamiento ganglionar en estas pacientes no aporta un mayor incremento de las recaídas ni un descenso de la SG. Sin embargo, las conclusiones a las que llega este estudio son muy controvertidas y son objeto de debate ya que las características de aquellas pacientes a las que se administra RT axilar (en niveles I y II) no quedan bien definidas. Existe otro estudio recientemente publicado, el *Adjuvant Management of the Axilla, Radiotherapy or Surgery (AMAROS)* (108) (109) que analiza si tras GC positivo es mejor el tratamiento de la axila con vaciado ganglionar o con RT. Incluye 4000 pacientes los resultados muestran que ambas técnicas son comparables en cuanto a SG y recurrencia loco-regional asociándose el tratamiento con RT a una menor morbilidad.

El área de la mamaria interna se irradiará si hay una BSGC positiva en dicha zona.

### **Tras mastectomía:**

Las indicaciones de la RT post-mastectomía están en función de los siguientes grupos de riesgo (Tabla 6) (110):

TABLA 6.			
Factores de riesgo	Bajo	Intermedio	Alto
Tumor	T1-2	T1-2	T3-4
Número ganglios +	0	1-3	≥ 4
Grado histológico	1-2	3	
Invasión vascular	–	+	

De tal forma que la RT complementaria post-mastectomía:

- en las pacientes de buen pronóstico o de bajo riesgo, no se indica ya que la tasa de recurrencia local post-mastectomía es baja.
- en las pacientes de alto riesgo siempre está indicada, ya que hay un claro beneficio de la misma.
- las pacientes de riesgo intermedio se han de valorar individualmente. En tumores T1-2 con 1-3 ganglios positivos, la edad menor de 50 años y la presencia de ILV se asocia a una mayor tasa de recidivas locoregionales por lo que en este subgrupo de pacientes, la RT estaría indicada (111).

## D. TRATAMIENTO SISTÉMICO

El objetivo del tratamiento adyuvante es lograr la erradicación de la enfermedad micrometastásica, responsable en último término de la recidiva y la muerte de la paciente por progresión de su enfermedad. Se han publicado numerosos ensayos clínicos que demuestran que:

- la administración de QT adyuvante reduce de manera significativa la recidiva y la muerte de las pacientes con CM infiltrante.

- la administración de hormonoterapia (HT) adyuvante reduce de manera significativa la recidiva y la muerte de las pacientes con CM hormonosensible (pacientes cuyos tumores expresan receptores hormonales: receptores de estrógeno y/o progesterona).

- la administración de fármacos antiHer2 de forma adyuvante reduce de manera significativa la recidiva y la muerte de las pacientes con CM Her2 positivo.

A pesar de que permanecen vigentes los factores pronósticos clásicos como son la existencia o no de afectación ganglionar, el tamaño tumoral o el grado histológico, hoy en día disponemos de una nueva clasificación molecular del CM que será pronóstica de supervivencia, pero al mismo tiempo será predictiva de la respuesta a los distintos tratamientos.

### Quimioterapia adyuvante:

Existe una clara evidencia de que la QT produce un indudable beneficio en la SLE y en la SG de las pacientes con CM.

Los esquemas basados en antraciclinas son claramente más eficaces que la QT previa basada en la ciclofosfamida. Numerosos estudios han demostrado que el régimen de antraciclinas tiene aún mayor eficacia cuando se le añaden taxanos (112) (113) (114) (115) (116).

### Hormonoterapia adyuvante:

El tratamiento hormonal debe conseguir que los estrógenos circulantes dejen de estimular el crecimiento tumoral, bien sea bloqueando la unión del estrógeno a su receptor (tamoxifeno) o disminuyendo su producción (supresión ovárica en las premenopáusicas e inhibidores de aromatasa en las postmenopáusicas).

De forma clásica, para considerar a un tumor como “receptor hormonal positivo” se ha utilizado el punto de corte de  $\geq 10\%$ . Sin embargo, este valor ha sido cuestionado: diferentes grupos como *ASCO* (*American Society of Clinical Oncology*) y *CAP* (*College of American Pathologists*) modifican este punto de corte en el año 2010 y lo fijan en  $\geq 1\%$  (117). Declaran que se debe ampliar la definición de “tumor hormonosensible” de tal forma que ninguna paciente deje de recibir el beneficio que le aporta un tratamiento poco tóxico como es el tratamiento hormonal.

Por otra parte, en la Reunión Internacional de Consenso de Expertos celebrada en St Gallen en 2013 se modifican las definiciones subrogadas para clasificar los diferentes subtipos intrínsecos del CM (58). Concretamente se modifican los criterios para clasificar a los tumores luminales en A y B. Estos últimos son más agresivos y tienen peor pronóstico, son menos sensibles a la HT y tienen un mayor beneficio del tratamiento quimioterápico. Así, para poder hablar de RP positivos, se aumenta el punto de corte previamente establecido hasta precisar  $> 20\%$  (118) de positividad. Al añadir esta restricción se reduce el número de pacientes clasificados como Luminal A y aumenta el número de pacientes clasificados como Luminal B y con ello el número de pacientes candidatos a recibir tratamiento adyuvante con QT (119).

### Tratamiento biológico:

La incorporación de trastuzumab (anticuerpo monoclonal anti-receptor Her2) en las pacientes que sobreexpresan el receptor Her2 o amplifican su oncogén tiene

un claro beneficio en la SLE y en la SG (120) (121) (122). La toxicidad limitada observada es la cardiotoxicidad, por lo que su administración debe conllevar una monitorización cardíaca del valor de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) de las pacientes, siendo el grupo de mayor riesgo el de las pacientes mayores de 50 años con una FEVI del 50-60%.

### **Tratamiento neoadyuvante:**

El tratamiento neoadyuvante, o terapia sistémica primaria, inicialmente se desarrolló para los tumores localmente avanzados (estadio III) o para tumores inflamatorios, con el objetivo de mejorar los malos resultados obtenidos con el tratamiento quirúrgico inicial. Sin embargo, hoy en día, también se puede utilizar en otras situaciones, como por ejemplo disminuir el tamaño del tumor y aumentar así el número de cirugías conservadoras de la mama o para conseguir respuestas patológicas completas en la pieza de cirugía, lo que identificaría a un subgrupo de pacientes con una mayor probabilidad de curación. Esto se conseguiría teóricamente por un tratamiento precoz de las metástasis, responsables en último lugar de la recidiva y la muerte. Es además un importante test *in vivo* que permite saber, al monitorizar la respuesta del tumor, la sensibilidad a los tratamientos realizados.

Los tumores que mejor responden al tratamiento con QT son los tumores Her2 positivo y los tumores triple negativos, con unas respuestas patológicas completas del 30-67%, mientras que los tumores luminales presentan una menor quimiosensibilidad de tal forma que la respuesta patológica completa se observa en menos del 10% de las pacientes.

## 6. BIOPSIA SELECTIVA DEL GANGLIO CENTINELA

### A. RECUERDO HISTÓRICO:

En 1960, *Gould et al.* (123) definieron por primera vez el GC en tumores de parótida como un ganglio anatómicamente constante situado en la confluencia de las venas facial anterior y posterior y cuyo análisis durante la cirugía del cáncer de parótida determinaba si el paciente además de la parotidectomía sería sometido o no a una disección radical del cuello.

En 1977, *Ramón Cabañas* (124) describió el concepto del GC en relación a la diseminación inguinal del cáncer de pene, basándose en estudios linforradiológicos y en su experiencia quirúrgica, aunque no llegó a utilizar técnicas específicas de localización intraoperatoria.

En 1992, *Morton et al.* (125) aplicaron la misma idea a la diseminación linfática del melanoma cutáneo y utilizaron un método de localización intraoperatoria del GC basado en la utilización de colorantes vitales. Dos años después, *Giuliano et al.* (126) aplicaron con éxito los colorantes vitales para la localización del GC en pacientes con CM.

En 1993, *Alex y Krag* (127) (128) (129) introdujeron la inyección de radiofármacos y la utilización intraoperatoria de una sonda detectora de radiación gamma para la identificación del GC en pacientes con melanoma y CM.

### B. ANATOMÍA LINFÁTICA DE LA MAMA Y LA AXILA. DISEMINACIÓN LINFÁTICA EN EL CÁNCER DE MAMA:

Existen dos redes linfáticas mamarias: el plexo superficial o papilar y el plexo subdérmico profundo. Ambos están enlazados mediante vasos linfáticos verticales y confluyen centralmente mediante los vasos linfáticos galactofóricos en el plexo subareolar. Los estudios realizados mediante inyección de colorantes demuestran que los finos linfáticos del corion son valvulados por lo que el flujo que ha de



alcanzar los ganglios regionales es unidireccional desde la superficie a la profundidad.

La areola y el pezón drenan por linfáticos areolares, de la misma manera que la glándula mamaria lo hace por los plexos perilobulares, hacia el plexo de Sappey. Desde ahí parten colectores internos y externos que contornean el borde libre del pectoral mayor y, después de atravesar la aponeurosis axilar, alcanzan los ganglios axilares. Se ha venido aceptando que, en condiciones normales, la vía linfática principal de la mama se realiza mediante estos dos colectores nacidos en el plexo subareolar, los cuales discurren laterocranealmente para alcanzar la axila. En ella, los estudios halstedianos hicieron pensar que la afectación ganglionar podría llevarse a cabo de una manera escalonada y progresiva desde los grupos periféricos a los centrales y subclaviculares del ápice axilar. Trabajos de finales del pasado siglo parecen confirmar esta opinión al comprobarse que sólo un 2% son metástasis en salto que rompen esta secuencia (130).

Todo parece indicar que, con las modernas técnicas de linfoscintigrafía, la dirección preferente del drenaje linfático de todos los cuadrantes mamarios es hacia los ganglios axilares homolaterales, siguiendo un dibujo sistemático a través de una supuesta desorganizada masa de ganglios regionales. Existen rutas de drenaje alternativas, siendo la vía accesoria más importante la de la mamaria interna a la que suelen acceder lesiones supero-internas de la mama. En estos casos, los linfáticos acompañan a los vasos perforantes de los músculos intercostales y terminan en la proximidad de la fascia endotorácica en los ganglios paraesternales o de la cadena mamaria interna (130) localizados en el espacio retroesternal, sobre la fascia endotorácica, paralelos a la arteria mamaria interna. Eventualmente pueden derivar el flujo a los ganglios subclavios, pero más frecuentemente lo hacen en los grandes colectores del cuello. Es frecuente que cuando los ganglios mamarios internos estén afectos por tumor, también lo estén los axilares.

Otras rutas de drenaje linfático de la mama han sido identificadas, como pueden ser la vía transpectoral y retropectoral, la abdominal, la supraclavicular, o incluso hacia la axila contralateral:

- a. Linfáticos de la vía transpectoral alcanzan los ganglios de Rotter desde donde, siguiendo la arteria acromiotorácica, terminan en el grupo apical.
- b. Los linfáticos retropectores drenan la porción supero-interna de la mama, alcanzan lateralmente el pectoral mayor y finalizan en los ganglios apicales. Esta vía, que aparece en un tercio de los individuos, es el mecanismo más directo de llegada de linfa al grupo subclavicular.
- c. Ocasionalmente, linfáticos mamarios alcanzan ganglios intercostales próximos a las cabezas costales desde donde, siguiendo las arterias intercostales posteriores, atraviesan la vaina del recto anterior o el plexo subperitoneal para continuar con los ganglios supradiafragmáticos, que también recibe colectores hepáticos a través del ligamento falciforme.
- d. También se ha descrito la posible invasión de los ganglios supraclaviculares sin estación previa: se trata de la vía directa de Rouvière en la que vasos linfáticos eferentes del grupo subclavio alcanzan la cadena cervical transversa.
- e. Otra vía descrita es la que alcanzaría la axila contralateral mediante comunicaciones cruzadas que cruzarían la línea media.

## C. CONCEPTO Y DEFINICIÓN DEL GANGLIO CENTINELA

### **Ganglio centinela:**

Desde el punto de vista de Medicina Nuclear, es el ganglio o ganglios linfáticos regionales que reciben el drenaje linfático directamente desde el tumor primario y detectables en la linfo-gammagrafía, especialmente si están conectados a un canal linfático.

Desde el punto de vista quirúrgico, se considera GC a aquél o aquellos que presentan una actividad representativa y que están ubicados en el área preseleccionada gamma-gráficamente.

### **Ganglio secundario:**

Desde el punto de vista de Medicina Nuclear, es el ganglio o ganglios linfáticos regionales que presentan una captación de radiotrazador en la línea de progresión linfática desde el GC, habitualmente con menor actividad, claramente diferenciada.

Desde el punto de vista quirúrgico, se considera GC a aquél o aquellos identificado/s o no previamente, que tenga/n una actividad significativamente menor en la misma área de drenaje del GC.

## D. VALIDACIÓN DE LA TÉCNICA:

El GC se identifica de forma constante en las diferentes series en aproximadamente el 96% de los casos, y predice el estado del resto de ganglios axilares “no centinela” en  $\geq 95\%$  de los casos (40) (82) (131) (132) (133). La tasa de falsos negativos originalmente descrita fue del 5-10% (con una sensibilidad del 90 al 95%), sin embargo, con cirujanos experimentados en esta técnica, se han descrito tasas más bajas (40) (82) (131) (132) (133) (134).

El mayor problema de la realización del GC es la tasa de falsos negativos, que implicaría un mayor riesgo de recurrencia axilar. Sin embargo, a pesar de la tasa aproximada de falsos negativos del 5-10% encontrada en los estudios realizados en

la fase de validación de la técnica (en los cuales se completó la LA tras GC negativo), diversas series sugieren que las tasas de recurrencia axilar son bajas tras la extirpación de un GC negativo (0 al 4,5%) (134) (135). En el ensayo NSABP B-32 que incluye a 5611 pacientes con CM y ganglios clínicamente negativos se aleatorizaron en dos grupos pacientes a los que se realizó GC y posteriormente se realizó LA y pacientes a los que solamente se realizó LA tras el hallazgo de un GC positivo (136) (137). El mapeo linfático se obtuvo en el 97% de los casos y la tasa de falsos negativos fue del 9,8%. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en el control regional, en la SG, ni en la SLE en una media de seguimiento de 8 años (2) (138).

### E. CRITERIOS DE INDICACIÓN:

Se consideran criterios de indicación de realizar biopsia selectiva del ganglio centinela:

- a. Carcinomas infiltrantes T1, T2 y T3, siempre que la axila sea clínica, ecográfica y patológicamente (si procede, ya sea citológica o histológicamente) negativa (82) (138) (139) (140).
- b. En los casos de CID con indicación de mastectomía o con alto riesgo de microinfiltración o infiltración (diámetro  $\geq 3$  cm, palpable, alto grado histológico, o presencia de comedonecrosis) (87).

### F. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN O CONTRAINDICACIÓN:

Se consideran criterios de exclusión de realizar biopsia selectiva del ganglio centinela:

- a. Verificación preoperatoria de afectación ganglionar mediante pruebas de imagen (ecografía) y, al menos, citología de las adenopatías sospechosas con diagnósticos compatible con metástasis de carcinoma.
- b. Carcinoma inflamatorio.
- c. RT axilar previa a dosis de 50 Gy.

- d. Carcinoma localmente avanzado con afectación ganglionar, en ausencia de tratamiento sistémico primario.

No constituyen criterios de contraindicación:

- Biopsia escisional previa (siempre que no aparezcan criterios de exclusión).
- Cirugía mamaria plástica de aumento o reducción previa.
- Tumores multifocales o multicéntricos.
- Cirugía conservadora con BSGC previa por carcinoma: no hay evidencia para contraindicar una nueva BSGC, aunque es necesaria la valoración individual de cada caso en función de la dosis de irradiación recibida en la axila.
- Mujeres gestantes o puérperas lactantes, previa retirada de lactancia 24 horas. Se recomienda utilizar la mínima dosis posible de trazador y el mismo día de la cirugía. En estos casos, está contraindicado el uso de cualquier colorante vital.

### **Consideraciones especiales:**

- En pacientes con axila clínica y ecográficamente negativa de inicio (cN0), puede realizarse la BSGC tanto previo como posterior al tratamiento sistémico primario.
- En pacientes cN1/N2 de inicio con negativización clínica y ecográfica de la axila tras el tratamiento neoadyuvante (cyN0), puede realizarse la BSGC después del tratamiento sistémico primario y evitar la LA cuando el GC sea negativo. No obstante, series recientes aportan resultados controvertidos al respecto por la alta tasa de falsos negativos secundarios a la terapia sistémica primaria (141) (142) (143).

### G. PROCEDIMIENTO

#### a. Marcadores:

La técnica imprescindible incluye actualmente el uso de un radiotrazador. Los trazadores isotópicos recomendables son el nano-coloide de albúmina, el coloide de estaño y el sulfuro de renio, que se deberán inyectar entre las 2 y las 24 horas antes de la cirugía. La actividad total administrada oscilará entre 0,5 y 3 mCi (18,5 – 111 MBq).

La técnica mixta (combinar el uso de radiotrazador y colorante) es aceptable, pero no está aceptado el uso exclusivo de colorante. Colorantes recomendados son el azul de metileno, el azul patente y el azul de isosulfán a dosis de 2 mL, inyectados 10-15 minutos antes de comenzar la intervención. Tras la inyección del colorante, se recomienda aplicar un masaje. Además, es recomendable administrar antihistamínicos y corticoides como profilaxis de reacciones alérgicas.

#### b. Localización de la inyección:

En términos generales, se distinguen inyecciones de tipo superficial (piel-areolar) e inyecciones de tipo profundo (peri- o intra-tumorales). Las técnicas con inyección en áreas cutáneo-areolares se acompañan de un porcentaje insuficiente de visualización de ganglios extra-axilares, reflejando el sistema de drenaje superficial de la mama. En contraste, las técnicas que inyectan el radiotrazador cerca o en el tumor evidencian captación de ganglios no axilares en el 20 al 40% de los casos, reflejando vías separadas para el drenaje profundo y el drenaje superficial de la mama. Es, por tanto, preferible realizar una inyección intra- o peritumoral (profunda), ya que son las inyecciones que garantizan un porcentaje importante de visualización de GC en localizaciones extra-axilares. La inyección periareolar o subdérmica, sin embargo, también está aceptada. Los diferentes grupos que propugnan el uso de las vías superficiales abogan por su facilidad y por el escaso impacto clínico que representa el porcentaje de GC metastásicos extra-axilares (144) (145).

Si nos encontramos ante una lesión no palpable, lo ideal sería realizar una inyección intra-o peri-tumoral del trazador asistida por métodos de imagen (ecografía o estereotaxia). En el caso de que la técnica quirúrgica fuera un SNOLL (del inglés, "*Sentinel Node and Occult Lesion Localization*"), la inyección intra- o peri-tumoral resulta imprescindible.

Si no existe la posibilidad de tener una asistencia con métodos de imagen, o en casos en los que ya se haya extirpado la lesión o que nos encontremos ante lesiones anatómicamente cercanas a la región axilar, se recomienda la inyección periareolar, pericavitaria o intradérmica del trazador.

### **c. Linfogramagrafía:**

Se debe realizar tras la inyección del radiotrazador para poder confirmar la migración del mismo y evidenciar drenajes extra-axilares. Lo ideal es realizarla en el periodo lo más cercano posible a la intervención.

Además de ser esencial para marcar la situación del GC en la piel, la imagen gammagráfica planar secuencial ayuda tanto a precisar el número de ganglios centinela distinguiendo entre los de drenaje primario y secundario, como a identificar ganglios centinela en sitios de drenaje no predecibles.

Las imágenes deben ser obtenidas secuencialmente. Cuando se escoge la ruta superficial de inyección, las imágenes dinámicas pueden ser de utilidad para la identificación de las vías linfáticas y los ganglios de drenaje primarios ya que suelen ser de aparición precoz. Cuando la inyección es profunda, la obtención de imágenes estáticas a los 10-20 minutos es necesaria ya que hay un porcentaje de pacientes en los que la visualización del GC es temprana. En caso de no visualización a las 4 horas, se pueden hacer imágenes al día siguiente o reinyectar al paciente lográndose una visualización en cerca del 50% de los pacientes originalmente no visualizados. Habitualmente se obtienen imágenes de proyección anterior y laterales del lado donde se encuentra la tumoración. La técnica de mama colgante o con el paciente en bipedestación para obtener imágenes laterales, que

permiten una mejor evaluación de los ganglios centinelas intramamarios o axilares cercanos al sitio de la inyección, pueden ser de gran utilidad.

En caso de que no exista migración y no se visualice el drenaje, se recomienda la reinyección del trazador ese mismo día. Si no se identifica el GC en la linfogammagrafía convencional, y en el caso de disponer de equipos SPECT-TC, se aconseja el uso de imágenes fusionadas para poder así identificarlo. El SPECT-TC también estaría indicado en el caso de que se prevea que una localización anatómica más precisa pueda simplificar significativamente la intervención quirúrgica, como en el caso de ganglios con aparente bajo conteo o ganglios extra-axilares.

### **d. Detección intraoperatoria del GC:**

Se debe iniciar la intervención por la axila, a fin de evitar contaminaciones axilares de tejido mamario y optimizar el tiempo de quirófano.

Se recomienda concluir la intervención de la BSGC con una exploración digital de la axila para descartar la existencia de adenopatías sospechosas palpables, susceptibles de ser biopsiadas.

La detección gamma-gráfica de GC(s) en la cadena mamaria interna debe conllevar su biopsia, siempre que técnicamente sea factible. Ante la no migración axilar y sólo hacia la mamaria interna, se puede realizar la inyección con colorante, recomendando seguir la misma metodología de la inyección del isótopo. También es posible la reinyección de radiotrazador o el seguimiento clínico y con técnicas de imagen.

Otro avance técnico en el campo de la cirugía radioguiada es la introducción de una nueva generación de gammacámaras portátiles. Estos dispositivos permiten obtener una imagen en tiempo real durante el procedimiento quirúrgico lo cual puede ser muy útil al cirujano en el caso de GC situados en áreas anatómicas de difícil acceso o próximas a la zona de inyección (como, por ejemplo, ganglios intramamarios, ganglios localizados en la cadena mamaria interna o cuando los



tumores se localizan en la “cola de Spencer”). Otro valor añadido de la gammacámara es su utilización para comprobar la ausencia de actividad significativa después de la extirpación del GC o persistencia de la misma, lo que redundaría en una cirugía más exacta y un descenso en los posibles falsos negativos de la técnica.

#### **e. Análisis anatomopatológico:**

El diagnóstico del/los GC debe ser intraoperatorio siempre que sea posible para aumentar la eficacia de la técnica, excepto en el caso de la mamaria interna, cuya biopsia intraoperatoria no es necesaria porque no entraña ningún gesto quirúrgico adicional.

Se recomienda estudiar el GC en su totalidad a fin de evitar sesgos de localización. La única técnica que actualmente permite el estudio del GC en su totalidad es una técnica molecular llamada OSNA (One Step Nucleic Acid Amplification), por lo que diversos grupos consideran que éste es el procedimiento de elección para el estudio anatomopatológico del GC (87) (146) (147) (148). Otros grupos sin embargo, no recomiendan la realización de IHQ o PCR de forma rutinaria en el análisis del GC (40) (149) (150) puesto que propugnan que un análisis tan exhaustivo de forma intraoperatoria implica el hallazgo de metástasis ocultas (CTA o micrometástasis) cuyo significado no varía ni el pronóstico ni el manejo quirúrgico.

Otro método de estudio intraoperatorio del GC es el estudio histopatológico mediante cortes por congelación que nos permitan detectar, al menos, metástasis de más de 2 mm. En el caso de que este método de estudio no fuera posible, estaría aceptado el estudio mediante citología por raspado o impronta para el estudio intraoperatorio.

El estudio histopatológico o citológico no permite estudiar el GC en su totalidad de forma intraoperatoria, por lo que deberá completarse el estudio diferido del GC restante. En estos casos, el diagnóstico definitivo postoperatorio debe incluir

secciones de, al menos, 200  $\mu$  del tejido restante. Si como resultados de este estudio diferido hubiera indicación de realizar una LA, se deberá someter a una segunda intervención a la paciente.

### **f. Diagnóstico:**

Se define un ganglio positivo o afectado aquél que presenta células tumorales metastásicas en el estudio histológico o  $\geq 250$  copias de ARNm de CK19 en el estudio OSNA.

Según el sistema TNM de estadificación y sus equivalencias en número de copias de ARNm-CK19/ $\mu$ L, los GC deben ser clasificados de la siguiente forma según el método de estudio:

- macrometástasis:

Si  $> 2$  mm de diámetro o  $\geq 5000$  copias de ARNm-CK19/ $\mu$ L.

Corresponde a un estadio pN1 según la clasificación TNM.

- micrometástasis:

Si diámetro  $> 0,2$  mm, pero  $\leq 2$  mm, o presencia de  $\geq 200$  células tumorales en un único corte de tejido, o si número de copias de ARNm-CK19/ $\mu$ L es  $\geq 250$  pero  $< 5000$ . Corresponde a un estadio pN1mi según la clasificación TNM.

- CTA:

Si diámetro  $\leq 0,2$  mm, o presencia de  $< 200$  células tumorales en un único corte de tejido, o si número de copias de ARNm-CK19/ $\mu$ L  $< 250$  pero  $> 100$ . Corresponde a un estadio pN0 (i+) si se detectan mediante IHQ o tinción con hematoxilina y eosina (H&E) o a un estadio pN0 (mol+) si se detectan mediante técnica molecular respectivamente.

## H. CONDUCTA A SEGUIR EN CASO DE GANGLIO CENTINELA POSITIVO:

La realización de BSGC permite al patólogo realizar un estudio más detallado de un (o unos pocos) ganglio/s respecto al estudio que tendría que hacer si se realizara una LA (la cual idealmente debe contener como mínimo 10 ganglios para que sea representativa del estado axilar). Esto tiene la ventaja potencial de mejorar la precisión diagnóstica y la estadificación, sin embargo, es a costa de encontrar un mayor porcentaje de afectación ganglionar micrometastásica. Es por eso que el hallazgo de micrometástasis y de CTA en el GC ha supuesto un cambio en la clasificación TNM.

Respecto al hallazgo de CTA, se considera que estas pacientes tienen el mismo pronóstico que aquellas pacientes con GC negativo, por lo que en estos casos no está indicada el realizar ningún tratamiento adyuvante (151) (no se debe realizar LA ni debe ser un criterio para administrar RT axilar ni terapia sistémica adyuvante). Es por ello que en la clasificación TNM se designan como pN0 (i+) o (mol+), siempre que no se detecten en las secciones teñidas con H&E.

Respecto al hallazgo de micrometástasis, a pesar de que estas pacientes se consideran pN1mi en la clasificación TNM y parece razonable pensar que podría empeorar el pronóstico, la mayoría de los estudios muestran que no afecta o que hay un mínimo impacto en cuanto a la supervivencia (151) (152) (153) (154) (155) (156) a pesar de que sí que se asocia con una mayor tasa de recidivas locales (157) (158) (159) (160) (161) (162) (163). Los datos se igualan y no se encuentran diferencias cuando se administra posteriormente RT. Es por ello que hoy en día hay consenso entre los diferentes grupos como ASCO, NCCN, SESPM (Sociedad Española de Senología y Patología Mamaria) y ESMO (*European Society of Medical Oncology*), en no recomendar la realización de LA ante el hallazgo de micrometástasis en el GC. Sin embargo, la posterior administración de RT adyuvante es aún un punto controvertido. Hay grupos que consideran que el diagnóstico de micrometástasis en el GC no constituye una indicación sistemática

de irradiación sobre la axila y sólo la administran si confluyen otros factores de mal pronósticos como número de ganglios centinela afectos de micrometástasis, grado histológico III del tumor o tumores con receptores hormonales negativos (mayor tendencia a recidiva local) (152).

Hoy en día, hay mucha controversia respecto al manejo y significado del hallazgo de micrometástasis y/o macrometástasis en 1 ó 2 GC. El GC es el único ganglio afectado en el 60% de los casos y si esta afectación es por micrometástasis, esta cifra asciende hasta el 90% de los casos. Es por eso que, a partir del año 2002 se comienzan a publicar múltiples trabajos en la búsqueda de factores que pudieran tener relación con la afectación de otros ganglios además del centinela. Surge así la teoría de que la LA puede no ser necesaria ante el hallazgo de uno o dos GC positivo/s ya que el riesgo de recurrencia axilar es bajo.

El primer grupo que publica un meta-análisis fue el de la Universidad de Michigan (153), que recoge los resultados de 15 estudios de los que seleccionan 11 y enumera los factores pronósticos que son más frecuentes y que, en diferente orden y porcentaje, se van a repetir en la mayoría de los estudios publicados. El más frecuente, el tamaño de las metástasis en el GC, después el tamaño del tumor primario, la invasión linfo-vascular, la rotura capsular y el número de GC positivos.

La Dra. Van Zee, del *Memorial Sloan Kettering Cancer Center* (MSKCC) en la ciudad de Nueva York, publicó el primer nomograma y que con el tiempo ha sido el más validado por numerosos grupos. Este nomograma puntúa en su gráfica ocho parámetros en las más de 700 pacientes de su casuística y lo validan con otras casi cuatrocientas (154). Con resultados parecidos a todos los publicados y a los que después aparecerán, quizás lo más interesante de su experiencia es la discusión de la publicación, en la que analiza los posibles sesgos de su experiencia como el no incluir el tamaño de las metástasis en el GC, ya que en todas las publicaciones parece ser el parámetro con mayor valor estadístico para evitar la LA.

Los múltiples trabajos publicados en aquellos años se pueden resumir con un comentario de una de las publicaciones de Viale (155) relativa a la experiencia de Milán, en la que argumenta que, el mínimo riesgo de afectación del resto de la axila es de un 13% y que de momento todos están de acuerdo en que lo aconsejable es una LA a la espera de un ensayo clínico, ya entonces en marcha, que diera una evidencia válida sobre esta controversia.

Existe una evidencia clara entre el tamaño de la metástasis cuando se clasifican como macrometástasis (tamaño > 2 mm) frente a micrometástasis ( $\leq$  2 mm) y la incidencia de GNC positivos (156). Al igual que sucede con el pronóstico, existen series que abogan por no hacer la LA al encontrar una tasa baja de afectación de GNC (157) (158), mientras otras encuentran que esta afectación puede darse hasta en más del 20% de los casos y, por tanto, no aconsejan dejar de hacer la LA (159) (160).

Sin embargo, desde la publicación del estudio NSABP-04 en adelante sabemos que, siempre que esperamos recidivas ganglionares en la evolución de un CM, aparecen menos de las que estadísticamente sería lógico esperar. Recientemente varios estudios han publicado (aunque con seguimientos cortos en la mayoría de los casos), tasas de recaída axilar inferiores a las esperadas en pacientes con micrometástasis en el GC en las que no se completó la LA. Por otro lado, hay que tener en cuenta que con los tratamientos adyuvantes que hoy llevan estas pacientes, será necesario esperar muchos años más para asegurar la ausencia de esas recidivas axilares, en qué frecuencia aparecerán y su repercusión en la supervivencia.

En un meta-análisis (161) en el que se revisan 17 estudios con al menos 2 años de seguimiento se concluye que se debe realizar LA si hay:

- afectación ganglionar clínica-ecográfica-patológica previa.
- GC positivo en paciente que va a ser sometida a mastectomía y a la que no se va a administrar RT posterior.

-  $\geq 3$  ganglios centinela positivos.

En otro meta-análisis (162) en el que se revisan 30 estudios que incluyen a 7.151 mujeres con un GC positivo a las que no se realizó LA con un seguimiento de 45 meses, la tasa de recurrencia axilar fue del 0,3% en el caso de que la afectación fuera por micrometástasis y del 0,7% en el caso de que se tratara de una macrometástasis.

El estudio ACOSOG (*American College of Surgeons Oncology Group*) Z-0011 (163) es un estudio diseñado para intentar establecer la necesidad o no de completar LA en paciente T1 o T2 con ganglios clínicamente negativos y que tuvieran menos de 3 ganglios centinela positivos. Este ensayo aleatorizaba las pacientes con GC positivo en un brazo sólo a observación y en otro a LA. Todas las pacientes fueron tratadas con RT posterior. Tras 6,3 años de seguimiento, no se encontraron diferencias significativas en el intervalo libre de enfermedad ni en la SG entre ambos brazos de tratamiento. Por tanto, concluye que no es necesario completar la LA en este grupo de pacientes.

La publicación de los resultados de este ensayo por parte de Giuliano en 2011 ha planteado un gran debate en la literatura respecto al abandono de la LA en pacientes con GC afecto.

Este ensayo ha sido ampliamente criticado por un déficit de diseño por lo que se debe ser muy cauto a la hora de interpretar estos resultados. No obstante, en líneas generales, los datos apuntan a que, dado el aparente escaso beneficio regional de la LA y la ausencia de recurrencia local cuando ésta no se realiza, en pacientes con tumores T1 con ganglios clínicamente no afectados, con menos de 3 ganglios centinelas positivos, que vayan a ser tratadas con una irradiación completa de la mama, y particularmente en mujeres con tumores RE positivo, la LA se podría omitir. Cabe destacar el hecho de que, si se planea irradiar parcialmente la mama, la LA sí que se debería realizar.

El ensayo IBCSG (*International Breast Cancer Study Group*) 23-01 (164) randomizó pacientes T1, T2 con uno o dos ganglio/s centinela positivo/s para micrometástasis a realizar LA o no. Comparando el porcentaje de administración de tratamiento adyuvante posterior en los dos grupos (GC y LA vs. GC), se administró RT en el 89% vs. 91%, terapia hormonal en el 63% vs. 67%, y QT en el 7% vs 9%. El objetivo fue estudiar a los 5 años la tasa de SG y la tasa de SLE con una población de 1960 pacientes, sin embargo, el ensayo cerró prematuramente con 931 pacientes con una media de seguimiento de 49 meses, por lo que los resultados no tienen el suficiente poder estadístico. Aún así, los resultados obtenidos fueron que no existen diferencias entre ambos grupos ni en cuanto a SG ni en cuanto a SLE, lo cual viene a corroborar los resultados obtenidos por el ensayo ACOSOG Z-0011.

Más cauta es *Viviana Galimberti* en las conclusiones de su comunicación en el *San Antonio Breast Cancer Symposium* 2011. En su estudio incluye 377 pacientes con GC afecto por micrometástasis o CTA en las que no se completó la LA. Con una mediana de seguimiento de 5 años, 8 pacientes (2,4%) tuvieron recaída axilar. En el análisis multivariante fueron significativos para recaída axilar el tamaño del tumor y el grado. La autora pone de manifiesto su preocupación por el abandono de la LA en todos los casos con micrometástasis ya que, aunque la enfermedad mínima axilar puede ser un factor de bajo riesgo de recaída ganglionar, deben tenerse en cuenta otras variables para seleccionar mejor a las pacientes en las que se puede evitar la LA.

En este momento y hasta que haya mayor nivel de evidencia para el abandono o no de la LA, cada caso debe ser evaluado de forma personalizada en el Comité de Patología Mamaria, teniendo en cuenta los factores que han mostrado su influencia en la afectación de otros ganglios además del GC. El tamaño y grado del tumor, la invasión linfo-vascular, la edad de la paciente, el Ki67 e incluso otros factores pendientes de análisis como la clasificación por perfiles moleculares y la carga tumoral del GC medida con OSNA, seguramente nos podrán ayudar a decidir a qué pacientes no completaremos la LA.

### Situación actual en nuestro medio

Los diferentes estudios publicados, tanto retrospectivos (165) como prospectivos (166) (167), en los que se plantea la posibilidad de no realizar LA ante el diagnóstico de GC positivo para micrometástasis, especialmente en determinados subgrupos de buen pronóstico (168), e incluso ante enfermedad ganglionar macroscópica limitada (169), han supuesto un cambio en la práctica clínica habitual sobre el tratamiento loco-regional axilar en las pacientes con CM. A pesar de que el nivel de evidencia actual no permite ofrecer una recomendación taxativa ni se han definido los criterios con los que establecerla, hay una clara tendencia hacia actitudes más conservadoras.

Para conocer cuál es el grado de homogeneidad en el tratamiento de las pacientes con CM y enfermedad localizada en las distintas unidades hospitalarias, el Grupo de Estudios Senológicos de la SESPM realizó una encuesta de ámbito nacional publicada en Septiembre de 2012 (170) sobre los aspectos metodológicos y de actitud frente a los distintos diagnósticos posibles en la BSGC. Los resultados fueron los siguientes:.

- En el 84,4% de los casos (56/66), el estudio del GC se realiza de forma intraoperatoria. En los casos restantes este estudio se realiza en dos tiempos: citología intraoperatoria, y estudio histológico diferido después.
- En relación con los métodos más utilizados, el 69,7% (46/66) lo hacen mediante OSNA; 15,1% (10/66) asocian estudio IHQ a la citología intraoperatoria; 7,6% (5/66) realizan un estudio intraoperatorio por congelación; el resto de centros (5/66) usan otros métodos combinados (citología intraoperatoria más OSNA en 2 [3,0%], citología intraoperatoria más Giemsa en 1 [1,5%], IHQ intraoperatoria en 1 [1,5%], y exclusivamente citología intraoperatoria en 1 caso [1,5%]).



- La actitud ante el hallazgo de CTA no es indicación de realizar LA. Sólo un centro, en función del fenotipo tumoral, considera realizarla.
- También es mayoritaria la indicación de LA ante el hallazgo de macrometástasis, que se da en el 86,3% de los centros (57/66). Los centros en los que no se indica de forma sistemática (13,7%, 9/66) refieren diferentes criterios para no hacerlo: en un caso, utilizan el hallazgo de más de 3,5 en la puntuación del nomograma de Tenon; en otro caso, siguen los criterios del estudio ACOSOG Z0011, mientras los otros 7 modifican estos últimos añadiendo diferentes criterios derivados del perfil IHQ o la morfología del tumor primario, como encontrar ILV a los utilizados en este estudio.
- Menos definidas están las actitudes ante el hallazgo de micrometástasis. En el 42,4% de los casos (28/66) no realizan LA; en el 33,3% (22/66) la realizan siempre, y hasta en el 24,2% (16/66) supeditan su decisión a criterios absolutamente variados y heterogéneos: 5 utilizan nomogramas (2 de ellos especifican que el del MSKCC) y los otros 9 refieren criterios muy diferentes, como por ejemplo tamaño tumoral (> T2, > 2 cm), resultado de IHQ, adyuvancia con RT, grado tumoral (G3), negatividad de receptores hormonales, positividad de Her2, edad (> 50 años), multifocalidad, tipo de cirugía realizada (Mastectomía), número de GC positivos para micrometástasis, fenotipo tumoral, presencia de ILV, o incluso según a criterio del propio cirujano.
- Cuando se analizan las respuestas referentes a los cambios de actitud que implica el hallazgo de micrometástasis en el GC, de nuevo, se encuentra que hasta en el 71,2% de los casos (47/66) esta actitud cambia en lo referente a la administración de tratamientos adyuvantes que, de otra manera, no se considerarían. Así, en 24 casos (36,3%) se plantea añadir QT adyuvante; en 3 casos (4,5%), RT, y hasta en 20 casos (30,3%), ambas.

- Al preguntar cómo cambiaría la actitud ante el hecho de encontrar micrometástasis o macrometástasis en pacientes a los que no se les hubiese hecho LA, esta pregunta se contestó sólo en unos casos, ya que algunos no plantearon esta posibilidad.
  - o Para las micrometástasis, 12 de 56 centros (21,4%) siempre añadirían quimioterapia en estos casos, y otros 37 (66,0%), dependiendo de variables para las que no se aportan criterios concretos ni homogéneos (dependiendo de la histología, de la IHQ, etc.). En 12 de 58 centros (20,7%) se plantea añadir RT adyuvante axilar siempre, y hasta 21 (36,2%), dependiendo de otras variables del tumor primario.
  - o Para el hallazgo de macrometástasis, en todos los casos sin LA se considera añadir QT, aunque en la mitad de ellos se hace siempre, y en la otra mitad dependiendo de variables, de nuevo, poco definidas y muy inespecíficas (características IHQ [Her2neu, Ki67]). La RT se añadiría siempre en 19 de 55 centros (34,5%) y hasta en 35 casos (63,6%) en función de criterios poco o nada definidos (un ganglio positivo en premenopausia y 4 o más en posmenopausia; existencia de extensión extraganglionar, y otros no especificados en la encuesta).

Al analizar estos resultados, observamos una gran variabilidad, discordancia y falta de uniformidad en los criterios entre centros a la hora de manejar los casos de CM con micrometástasis y, en menor medida aunque de forma más acusada, desde la publicación del estudio ACOSOG Z001110, de las macrometástasis. Los criterios no son homogéneos y mezclan criterios epidemiológicos, morfológicos e IHQ.

Esta variabilidad se refiere tanto a la indicación de completar la LA, como a la indicación de administrar tratamientos adyuvantes en esos casos concretos: es muy común la indicación de QT, siendo más variable la de RT.

# **HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**



## HIPÓTESIS

La carga tumoral total (CTT) medida mediante el método OSNA en el análisis intraoperatorio del GC tiene un valor predictivo de la afectación de GNC.

## OBJETIVOS

### 1. PRINCIPAL

- Demostrar que el estudio intraoperatorio molecular de la CTT en el GC mediante el método OSNA es útil para predecir la presencia de metástasis adicionales en GNC.

### 2. SECUNDARIOS:

1. Identificar otros parámetros clínico-patológicos predictivos de afectación ganglionar axilar.
2. Comparar la utilidad clínica del valor de CTT con la de otros parámetros predictivos de afectación ganglionar axilar.
3. Establecer un punto de corte de CTT con utilidad en la práctica clínica para valorar la necesidad de realización de LA.
4. Describir la población a la que se realizó el método OSNA para el estudio de GC en el Hospital Universitario La Paz, con especial referencia a su grado de afectación axilar tanto cualitativa (macrometástasis, micrometástasis o células tumorales aisladas) como cuantitativa (CTT).



# **MATERIAL Y MÉTODO**





## MATERIAL Y MÉTODO:

### 1. POBLACIÓN

Se realizó un estudio retrospectivo mediante revisión de historias clínicas de aquellas pacientes con diagnóstico de CM en una biopsia prequirúrgica incisional percutánea, a las que se realizó BSGC mediante método OSNA en el Hospital Universitario La Paz (Madrid, España) entre abril de 2010 y octubre de 2014.

#### **Criterios de inclusión:**

- Carcinomas infiltrantes T1, T2 y T3, con estudio axilar clínico, ecográfico y patológico (si procede, ya sea citológica o histológicamente) negativo (cN0).
- Carcinomas intraductales con indicación de mastectomía o con alto riesgo de microinfiltración o infiltración (diámetro  $\geq 3$  cm, palpable, alto grado histológico, o presencia de comedonecrosis).

#### **Criterios de exclusión:**

- Carcinomas infiltrantes T4.
- Verificación preoperatoria de afectación ganglionar mediante ecografía y, al menos, citología de las adenopatías sospechosas con diagnóstico compatible con metástasis de carcinoma.
- RT axilar previa a dosis de 50 Gy.
- Carcinomas con CK19 negativa en la biopsia preoperatoria.
- Metástasis a distancia (M1) en el momento del diagnóstico.

De cada caso, se recogieron y analizaron los siguientes datos:

- Edad.

- Estado hormonal: mujer premenopáusica o perimenopáusica, mujer postmenopáusica y mujer gestante o lactante.
- Tratamiento primario: exéresis (incluyendo cirugía conservadora y mastectomía), y QT neoadyuvante.
- Lateralidad: mama izquierda, mama derecha o ambas mamas.
- Si se trataba de una lesión unifocal, multifocal, o multicéntrica.
- Si se trataba del primer episodio de CM o si, en cambio, era una recidiva. En este caso, se registró si se trataba de una lesión metacrónica ipsilateral o contralateral.
- También se registraron aquellos casos en los que aparecieron carcinomas sincrónicos, tanto ipsilaterales como contralaterales.
- Categoría BIRADS en mamografía y en ecografía, así como el tamaño ecográfico de la lesión en milímetros.
- Casos en los que la axila fue clínica o ecográficamente sospechosa y se realizó una PAAF o una BAG (todas ellas con resultado negativo para metástasis de carcinoma).
- Tipo histológico.
- Grado histológico, analizado mediante el Sistema de Bloom-Richardson modificado.
- Fenotipo molecular
- Grado de expresión de los receptores de estrógenos y progesterona, expresado en porcentaje y en positivo ( $\geq 1\%$ ) o negativo (0%).
- Índice de proliferación del antígeno Ki67, expresado en porcentaje y en baja actividad ( $< 20\%$ ) o alta actividad ( $\geq 20\%$ ).

- Expresión del oncogén HER2/neu (c-erb-B2).
- Presencia de ILV.
- Resultado del estudio intraoperatorio del GC (positivo o negativo), número total de GC analizados en cada paciente, y de ellos, número de GC que fueron positivos.
- En aquellos casos en los que se realizó tratamiento quirúrgico primario, se recogió el tamaño anatomopatológico del carcinoma en milímetros y la clasificación patológica (pT) según la séptima edición de la AJCC.
- En los casos de carcinoma infiltrante se registraron:
  - Asociación de componente intraductal y grado de diferenciación de dicho componente.
  - Asociación de necrosis.
- Realización o no de LA. En nuestro estudio, la indicación de LA es el hallazgo de macrometástasis (salvo en el periodo inicial del estudio, en el que hubo 28 casos en los que, a pesar de resultado de GC con micrometástasis, se completó la LA).
- En los casos en que se realizó LA, número total de GNC extraídos, y de ellos, número de GNC que resultaron positivos.
- Número de copias de ARNm-19/ $\mu$ L en cada GC analizado mediante método OSNA y número de copias analizadas en total o CTT.
- Clasificación pN según la 7ª edición de la AJCC.
- Estadios pronósticos TNM según la 7ª edición de la AJCC.

## 2. IDENTIFICACIÓN DEL GANGLIO CENTINELA

El día previo a la cirugía, se inyectó un nanocoloide de albúmina marcado radiactivamente con  $Tc^{99m}$  en los cuatro cuadrantes de la dermis periareolar de la mama afecta. Tras realizar las cuatro inyecciones se esperaron entre 60 y 90 minutos para comenzar a adquirir las imágenes con el objetivo de que el radiotrazador migrase hasta los ganglios linfáticos de la paciente. Para permitir la correcta adquisición de las imágenes, la paciente fue colocada con los brazos detrás de la cabeza, posición en la que el colimador puede acercarse más a la zona de estudio y que evita la atenuación de los brazos sobre los depósitos en la axila. En los casos en los que no se observó migración de radiotrazador, se realizaron imágenes 20 horas post-inyección.

En primer lugar, se realizaron las imágenes planares e, inmediatamente después, se procedió a la adquisición del estudio SPECT-TAC.

En la adquisición de las imágenes planares se utilizó una gammacámara convencional de dos cabezas modelo *Sopha* (*Sopha Camera DST; Sopha Medical Vision International, Bue Cedex, France*). Se obtuvieron imágenes planares de 10 minutos de duración en dos proyecciones, una anterior y una lateral del lado de la lesión.

Para el estudio SPECT-TAC se utilizó un equipo compuesto por una gammacámara de dos cabezas con un tubo de Rayos X de baja dosis modelo *Infinia Hawkeye 4* (*General electric Medical System, Milwaukee, WI, USA*). Este equipo puede adquirir secuencialmente un estudio SPECT y un estudio TAC de baja dosis sin necesidad de mover al paciente. En todos los casos se realizará primero la SPECT, con un campo de visión de 40 cm. Posteriormente se inicia la adquisición de cortes de imagen mediante TAC, generalmente realizados cada centímetro. La adquisición de cada corte se realiza mientras se empieza a procesar la información del corte anterior, de tal modo que el procesado de cada corte se completa un momento antes de que empiece el siguiente. Así, es posible visualizarlos en tiempo

real en el monitor de la consola de adquisición. Se puede realizar una secuencia de hasta 40 cm, que es el campo de visión del estudio SPECT. Una vez adquiridos los dos estudios, se transfieren a la estación de trabajo y, mediante un paquete de registro, se fusionan. La interpretación de las imágenes fue llevada a cabo por consenso entre dos médicos nucleares experimentados en la técnica.

Inicialmente se interpretaron las imágenes planares. Se visualizaron conjuntamente las proyecciones anterior y lateral evaluando la presencia de depósitos en los territorios ganglionares próximos a la lesión primaria. En todos los casos se realizó un enmascaramiento de los puntos de inyección, de modo que, al eliminar de las imágenes la actividad de los mismos, resulta más evidente la actividad de los posibles GC. Se interpretaron como GC todos los depósitos cuya localización y morfología fuera compatible con la presencia de un ganglio con actividad radiactiva en alguno de los territorios linfáticos involucrados.

Para la interpretación del estudio SPECT-TAC se utilizaron cortes axiales, coronales y sagitales de las dos modalidades, así como imágenes de fusión también en los tres cortes y reconstrucciones MIP (*Maximum Intensity Projection*) de la SPECT.

Se consideraron como GC todos los depósitos de radiotrazador de cualquier intensidad que mostrasen una localización y morfología compatibles con la presencia de ganglios linfáticos. No se consideró indispensable que los depósitos de radiotrazador coincidiesen en las imágenes anatómicas con un ganglio linfático identificable, ya que, en ocasiones, a pesar de presentar una gran actividad radiactiva, es posible que el pequeño tamaño del GC imposibilite su localización en la TAC de baja dosis.

En la Figura 1 se muestran las imágenes utilizadas para la interpretación del estudio SPECT-TAC: en la primera fila se encuentran los cortes coronal, sagital y axial de TAC, en la segunda fila se encuentran los mismos cortes de SPECT, y en la

tercera fila los cortes de fusión. La imagen de abajo a la derecha corresponde a la reconstrucción MIP.

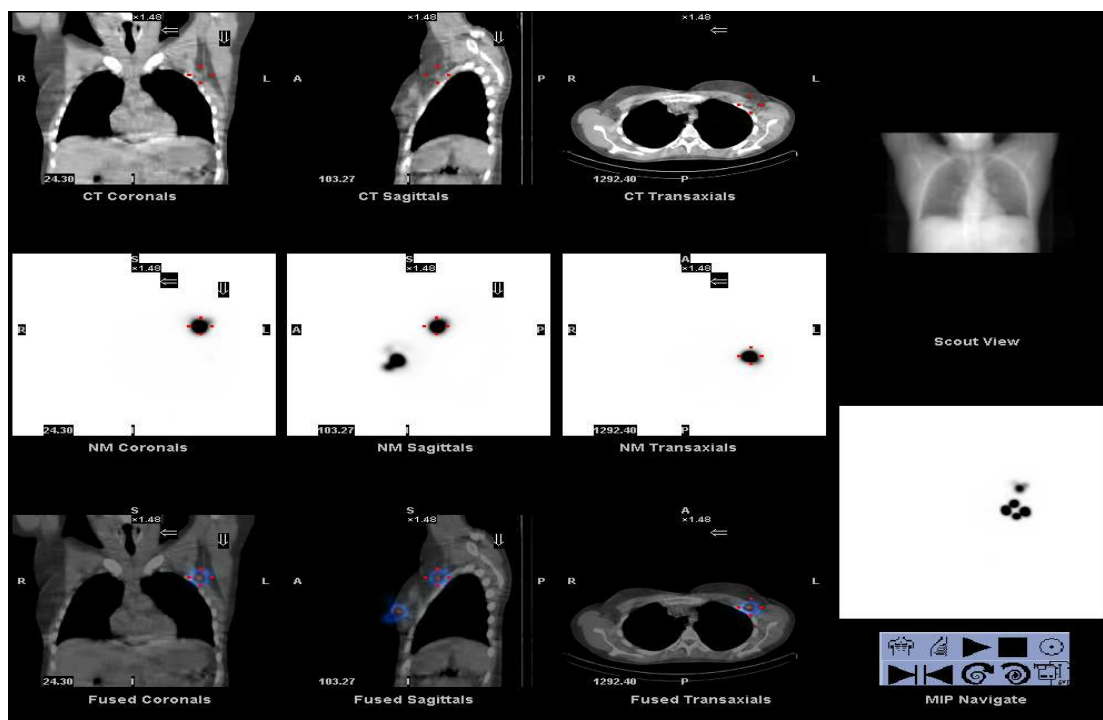


Figura 1. Imágenes utilizadas en la interpretación de estudios SPECT-TAC.

Intraoperatoriamente, se colocó a la paciente en decúbito supino con el brazo abducido a 90 grados. Para realizar la búsqueda del GC se utilizó una sonda gammadetectora (*Surgical Europrobe 3® System, Eurorad, Eckbolsheim, France*). Se extirparon todos los ganglios que presentasen actividad radiactiva medida con la sonda gammadetectora mayor del 10% del ganglio que presentase mayor actividad, todo ello medido en cuentas por segundo (cps). Todos los ganglios fueron medidos con la sonda gammadetectora tras ser extirpados para comprobar que eran los responsables de la actividad radiactiva detectada *in vivo* y para evitar que otros tejidos con actividad radiactiva (puntos de inyección, otros GC...) alterasen la medida. En los casos en que se extirparan juntos más de un GC, éstos fueron separados antes de ser enviados al Servicio de Anatomía Patológica para su estudio. Para finalizar la búsqueda de GC se realizó una búsqueda minuciosa de

cualquier actividad radiactiva presente en el lecho quirúrgico y una vez se hubo comprobado que ningún depósito superaba el 10% del GC de mayor actividad se procedió al envío de los tejidos al Servicio de Anatomía Patológica.

### 3. ESTUDIO INTRAOPERATORIO DEL GANGLIO CENTINELA MEDIANTE MÉTODO OSNA

Cuando el patólogo recibe la muestra del GC, aísla de forma individual cada ganglio separando el tejido graso extranodal circundante. Este tejido graso extranodal se analizará posteriormente mediante estudio histológico convencional para detectar posible extensión extranodal.

Por otra parte, el patólogo mide y pesa cada GC y los incluye en su totalidad para realizar el estudio OSNA. Según el procedimiento estándar de análisis de GC descrito por Tsujimoto et al (4), aquellos GC con un peso inferior a 50 mg fueron excluidos de nuestro estudio. Aquellos GC que excedían el peso máximo de 600 mg fueron cortados en 2 o más piezas y procesados como muestras separadas. Se analizaron hasta un máximo de 4 ganglios linfáticos cada vez.

Los resultados fueron dados en número de copias de ARNm-CK19/ $\mu$ L y la carga metastásica fue evaluada de acuerdo a los límites de corte establecidos por *Tsujimoto et al.* (4):

- macrometástasis (OSNA ++):  $\geq 5.000$  copias de ARNm-CK19/ $\mu$ L
- micrometástasis (OSNA +):  $\geq 250$  copias, pero  $< 5.000$  copias/ $\mu$ L
- no metástasis (OSNA -):  $< 250$  copias/ $\mu$ L. Aquí podemos distinguir dos categorías: OSNA -, cuando hay  $< 100$  copias/ $\mu$ L, y OSNA - L ("L" proviene de "low expression" en inglés) cuando hay  $\geq 100$  copias, pero  $< 250$  (CTA).

El análisis del GC mediante método OSNA puede verse en ocasiones inhibido por materiales inhibitorios (171) (172) provocando un consiguiente resultado falso-negativo (menos de 250 copias). En estos casos, una simple dilución (1:10) los

convierte en resultados verdadero positivo ( $\geq 250$  copias/ $\mu\text{L}$ ). Sin embargo, los valores de estos resultados tras dilución son menos fiables para el análisis cuantitativo y fueron evaluados como “+ inhibición” (OSNA + I). Estos pacientes fueron omitidos en el presente estudio dado que no es posible determinar de forma precisa el número de copias de ARNm-CK19/ $\mu\text{L}$ .

Se recogieron los datos de CTT en los GC positivos. Para poder trabajar con cifras más manejables, se realizó una transformación logarítmica de estos datos de CTT (log CTT).

#### **4. ACTITUD SEGÚN EL RESULTADO OBTENIDO MEDIANTE OSNA EN EL GANGLIO CENTINELA**

La indicación para realizar LA fue el hallazgo de macrometástasis en el GC. Así, cuando el resultado del estudio intraoperatorio del GC mediante el método OSNA resultó positivo para macrometástasis, se realizó LA de los niveles axilares I y II de Berg.

En nuestro estudio hay 28 casos en los que el GC tuvo un resultado positivo para micrometástasis y, sin embargo, se llevó a cabo una LA. Estos casos corresponden al periodo inicial del estudio, durante el cual aún no se había implementado el protocolo de no realizar LA ante el diagnóstico de micrometástasis en el GC.

En el caso de hallazgo de CTA no se realizó LA.

#### **5. ESTUDIO DIFERIDO DE GANGLIOS NO CENTINELA MEDIANTE HISTOLOGÍA**

Todos los GNC fueron examinados de forma rutinaria mediante técnicas convencionales de histología por el mismo grupo de patólogos.

No se utilizaron técnicas de tinción IHQ para estudiar los GNC.



Cada GNC fue cortado por la mitad a través de su eje largo tras ser fijado en formalina. Una de las superficies cortadas fue examinada mediante tinción con H&E. Se estadificó el estado de los ganglios axilares según la séptima edición de la AJCC.

En nuestro estudio, con el propósito de aumentar el tamaño muestral, cualquier tipo de metástasis detectada en los GNC se incluyó en el grupo denominado “GNC positivo”.

## 6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se recogieron en una hoja de cálculo Microsoft Excel y fueron exportados informáticamente para su procesamiento estadístico al programa SPSS (SPSS versión 11.5, Chicago, IL, USA) de Windows. Se consideran diferencias estadísticamente significativas aquellas que presentan una probabilidad de error menor del 5% ( $p < 0.05$ ).

### **Análisis descriptivo**

Para la descripción de variables cuantitativas continuas se utilizó la media junto con la desviación estándar. Las variables cualitativas se describieron mediante frecuencias absolutas y frecuencias relativas expresadas en porcentaje.

### **Análisis univariante**

Las variables de interés fueron cualitativas categóricas dicotómicas. La comparación de las mismas con variables cuantitativas continuas se realizó principalmente mediante el test de la *t de Student* para grupos independientes. Cuando por estratificación o selección de submuestras se trabajó con tamaños muestrales menores de 30 casos, o cuando no se podía verificar normalidad en la distribución de las variables (prueba de *Kolmogórov-Smirnov*), la significación estadística en este tipo de análisis se obtuvo mediante la prueba no paramétrica de *U de Mann-Whitney*. Se calculó la magnitud de la asociación de las variables que

habían demostrado asociación estadística mediante el cálculo de odds-ratio (OR) crudas a través de regresiones logísticas.

### **Análisis multivariante**

El análisis multivariante se realizó mediante modelos de regresión logística, con el fin de identificar los factores que definitivamente se asocian de forma independiente con la variable dependiente y la magnitud de su efecto ajustado (mediante OR y su IC95%). Al modelo se le ofrecieron las variables que habían demostrado significación en el análisis univariante, las que quedaron cerca de la significación ( $p < 0.10$ ) y las variables de las que se conocía que podían actuar como variables de confusión, al margen de su significación. El método utilizado fue un algoritmo por pasos hacia delante ("*Forward Stepwise*") basado en la mejora del *test de Wald*. Para el modelo de GNC, se sometió a la variable "CTT" a transformación logarítmica, para obtener una distribución normal de la misma.

La capacidad predictiva de los modelos se evaluó mediante el área bajo la curva (o AUC, del inglés "Area Under the Curve") ROC (del inglés "Receiver Operating Characteristic") y su intervalo de confianza al 95% (IC 95%). Para el análisis de los puntos de corte, se buscó aquel que maximizara especificidad sin perder la sensibilidad del punto de corte de partida.

# RESULTADOS



## RESULTADOS

### 1. RESULTADOS DESCRIPTIVOS:

En nuestro hospital se realizaron 817 procedimientos de BSGC en 801 pacientes entre abril de 2010 y octubre de 2014, ambos inclusive. Los casos que cumplían nuestros criterios de inclusión, y por tanto fueron objeto de nuestro estudio, fueron 704 procedimientos de BSGC realizados en 696 pacientes. Esta discrepancia entre el número de BSGC realizadas y el número de pacientes se explica de la siguiente manera:

- 5 pacientes presentaron una lesión sincrónica contralateral que requirió realización de BSGC bilateral.

- 3 pacientes sufrieron una recidiva durante el periodo de estudio (2 en el lado contralateral y 1 en el mismo lado) siendo los 3 casos susceptibles de realización de BSGC.

En el caso de pacientes que presentaran lesiones sincrónicas ipsilaterales (18 pacientes), se recogieron y analizaron los datos de aquellas lesiones “a priori” de peor pronóstico.

Los casos excluidos correspondieron a:

- tumores CK19 negativos (91 pacientes, en los que se realizaron 98 procedimientos de BSGC ya que 7 de ellos presentaron un carcinoma sincrónico contralateral).

- tumores con afectación clínica ganglionar candidatos a tratamiento con QT neoadyuvante (14 pacientes, en los que se realizaron 15 procedimientos de BSGC, ya que en uno de los casos se trataba de un carcinoma metacrónico ipsilateral).

**801 PACIENTES  $\equiv$  817 BSGC**

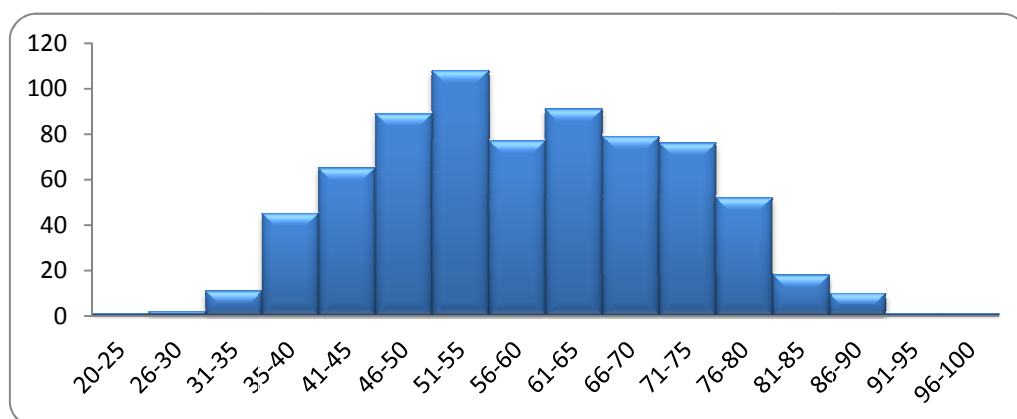


## A. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE NUESTRA POBLACIÓN:

### Edad

La edad media y la mediana fue de 58 años (desviación típica de 13)

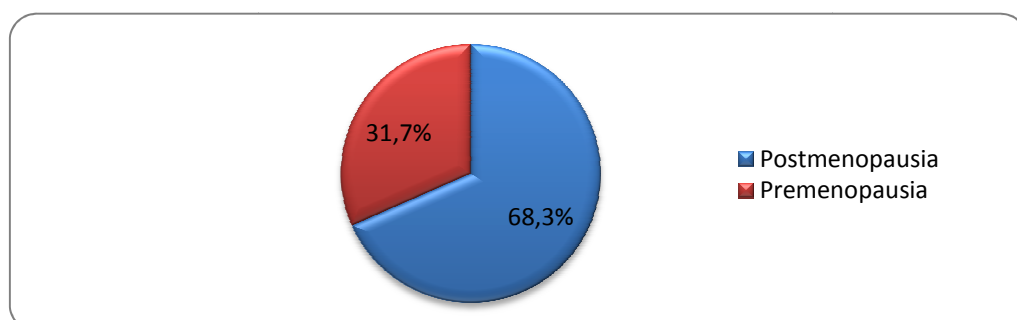
GRÁFICO 1. Distribución por rangos de edad, en función del número de casos.



### Estado hormonal

Un 68,2% (480/704) de nuestras pacientes correspondió a mujeres en estado postmenopáusico, un 30,4% (214/704) a mujeres en estado pre- o perimenopáusico, un 1,3% (9/704) mujeres en estado gestante o lactante, y un 0,1% (1/704) se trató de un varón. Simplificando el estado hormonal en una variable dicotómica y desestimando el caso del paciente varón, el 68,3% (480/703) de los casos se encontraban en estado postmenopáusico y el 31,7% (223/703) se encontraban en estado premenopáusico. Estos datos quedan reflejados en el Gráfico 2.

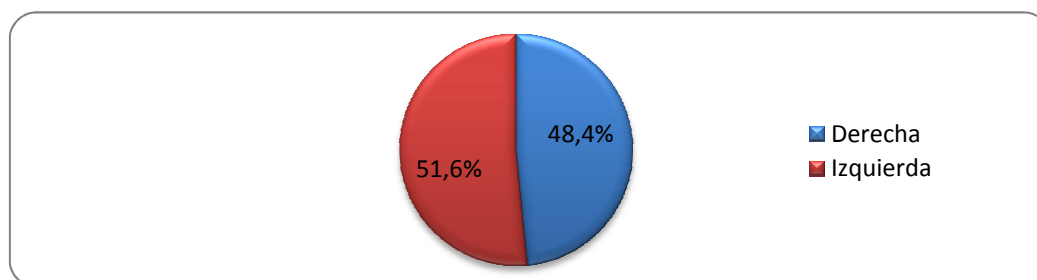
GRÁFICO 2. Estado hormonal de la población.



## Lateralidad

El 48,4% de los carcinomas (341/704) se encontraban en la mama derecha y el 51,6% (363/704) en la mama izquierda.

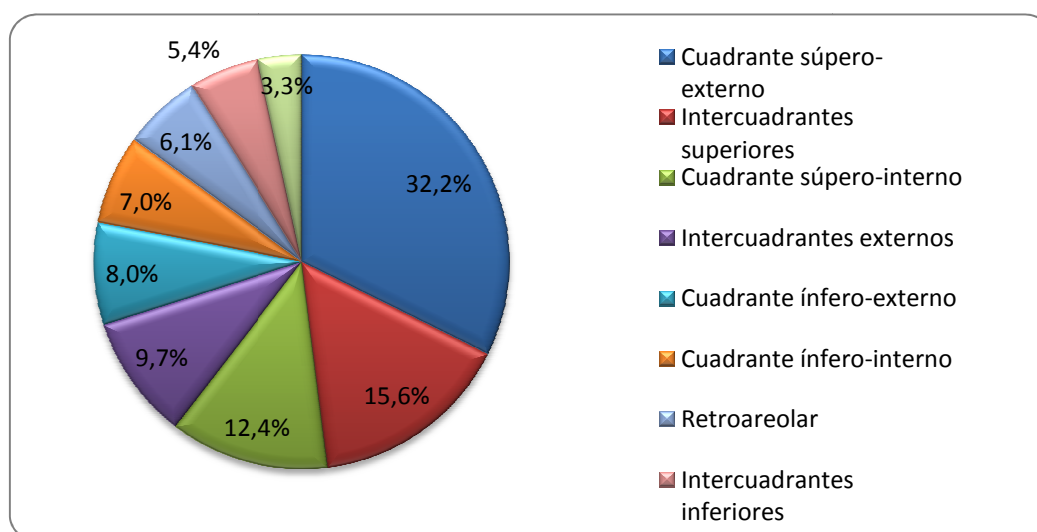
GRÁFICO 3. Lateralidad.



## Localización

La localización del carcinoma dentro de la mama se distribuye de la siguiente manera: 32,2% (227/704) en el cuadrante súpero-externo; 15,6% (110/704) en intercuadrantes superiores; 12,4% (87/704) en el cuadrante súpero-interno; 9,7% (68/704) en intercuadrantes externos; 8,0% (56/704) en el cuadrante ínfero-externo; 7,0% (49/704) en el cuadrante ínfero-interno; 6,1% (43/704) retroareolar; 5,4% (38/704) en intercuadrantes inferiores; 3,3% (24/704) en intercuadrantes internos; 0,3% (2/704) de forma difusa en toda la mama.

GRÁFICO 4. Localización del carcinoma dentro de la mama.

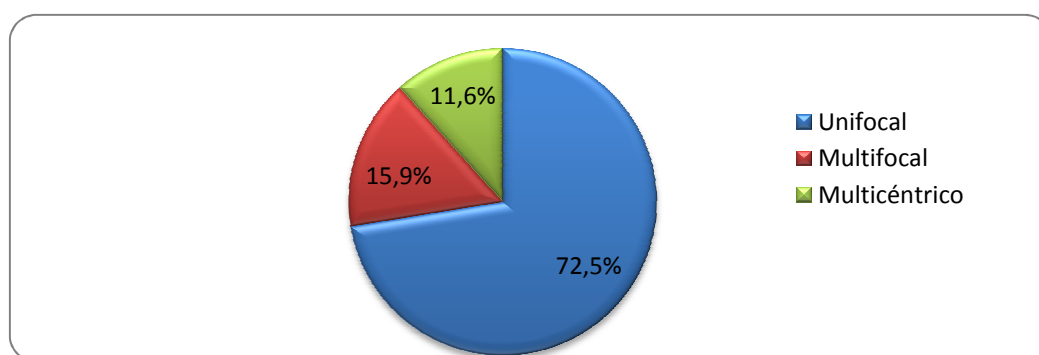




### Focalidad tumoral

El 72,5% de los casos (510/704) fueron lesiones unifocales. Se encontró un carcinoma multifocal en el 15,9% (112/704) y multicéntrico en el 11,6% de los casos (82/704).

GRÁFICO 5. Focalidad tumoral.

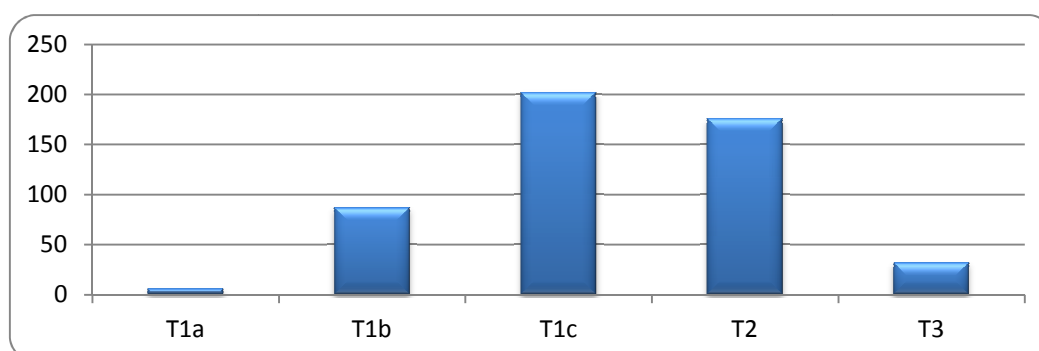


### Tamaño

El tamaño de la lesión determinado por pruebas de imagen, concretamente por mamografía y/o ecografía mamaria tuvo una media de 23 mm (mediana de 19 mm, desviación típica de 16 mm).

En el Gráfico 6 queda reflejada la distribución del tamaño clínico de los carcinomas registrados en nuestra población, según la clasificación de la séptima edición de la AJCC.

GRÁFICO 6. Clasificación clínica del tamaño tumoral según la 7ª edición de la AJCC en función del número de casos.



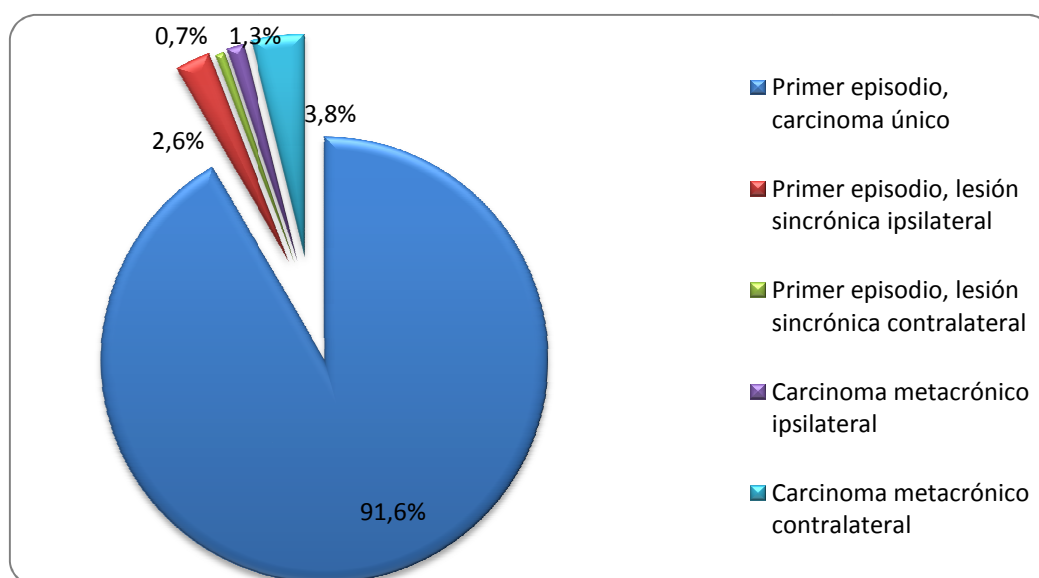
### Tipo de Lesión

En el 91,6% (645) de los casos se trataba del primer y único cáncer de mama de la paciente.

En el 3,3% (23) se manifestó como distintos tumores de aparición sincrónica: el 2,6% (18) en la misma mama que el principal, y el 0,7% en la mama contralateral.

El 5,1% tenían un antecedente de otro cáncer de mama, y ahora presentaban una recidiva (1,3% - 9) o un tumor contralateral metacrónico (3,8% - 27).

GRÁFICO 7. Tipo de Lesión.



### Clasificación BIRADS de la mamografía y de la ecografía al diagnóstico

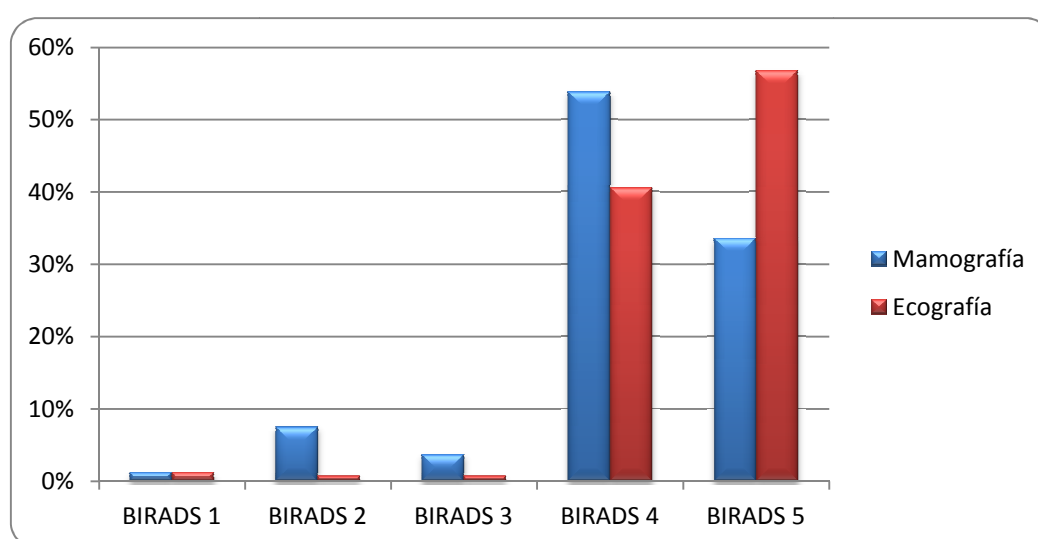
En el estudio con pruebas de imagen diagnósticas, se utilizó el sistema BIRADS para catalogar la sospecha de malignidad de la lesión.

El estudio mamográfico catalogó a las lesiones como BIRADS 4 en el 54,0% de los casos, BIRADS 5 en el 33,6%, BIRADS 3 en el 3,7%, BIRADS 2 en el 7,5% y BIRADS 1 en el 1,2%.

Respecto a la ecografía complementaria realizada, el 56,8% de los casos fue catalogada como un BIRADS 5, el 40,6% como un BIRADS 4, el 1,2% como BIRADS 1, el 0,7% como BIRADS 2, y el 0,7% como BIRADS 3.

Vemos por tanto que la lesión fue catalogada como BIRADS 4 ó 5 en un 87,6% de los casos con mamografía y en un 97,4% de los casos con ecografía complementaria.

GRÁFICO 8. Clasificación BIRADS de mamografía y ecografía al diagnóstico.



### Estudio ecográfico de los ganglios axilares

En el 79,6% de los casos (560/704), el estudio ecográfico de los ganglios axilares fue negativo mientras que el 20,4% (144/704) resultó sospechoso para afectación nodal metastásica. En este último caso, se realizó PAAF o BAG en todos los casos, siendo el resultado anatomopatológico negativo en todos ellos.

### Tratamiento primario

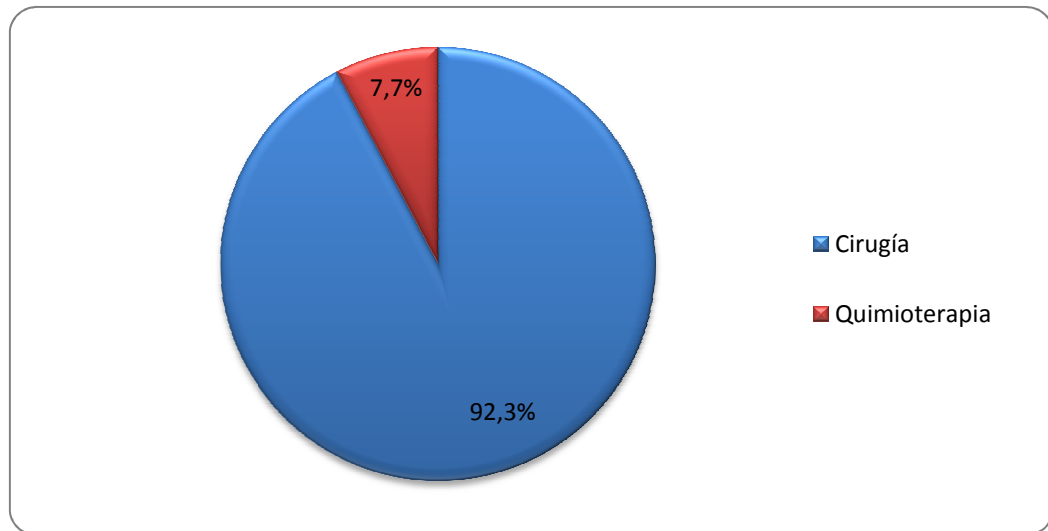
El tratamiento primario llevado a cabo fue la exéresis quirúrgica en el 92,3% de los casos (650/704) mientras que en el 7,7% restante (54/704) se optó por administrar una QT neoadyuvante, realizando el procedimiento de BSGC previo a la

## RESULTADOS

---

QT. En este último caso, cuando estuviera indicada la realización de LA (esto es, cuando el resultado de GC fuera positivo para macrometástasis), ésta se realizó una vez finalizado el tratamiento QT. El análisis de estos GNC no fue incluido en nuestro estudio para evitar sesgos.

GRÁFICO 9. Tratamiento primario.

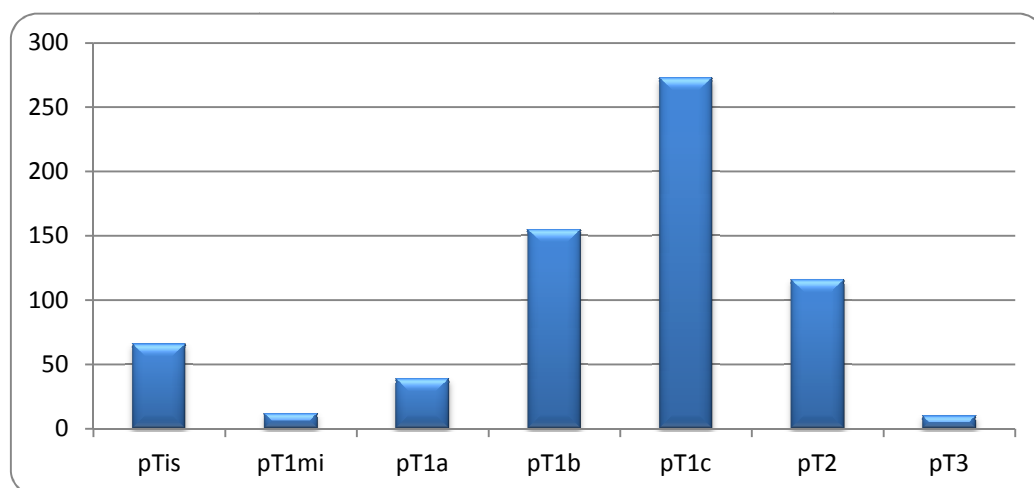


## B. CARACTERÍSTICAS ANATOMOPATOLÓGICAS:

### Tamaño anatomopatológico

El tamaño anatomopatológico del carcinoma (posible de determinar en aquellas pacientes en las que se realizó un tratamiento quirúrgico primario, 650 casos) tuvo una media de 15 mm (mediana de 12 mm, desviación típica de 12 mm).

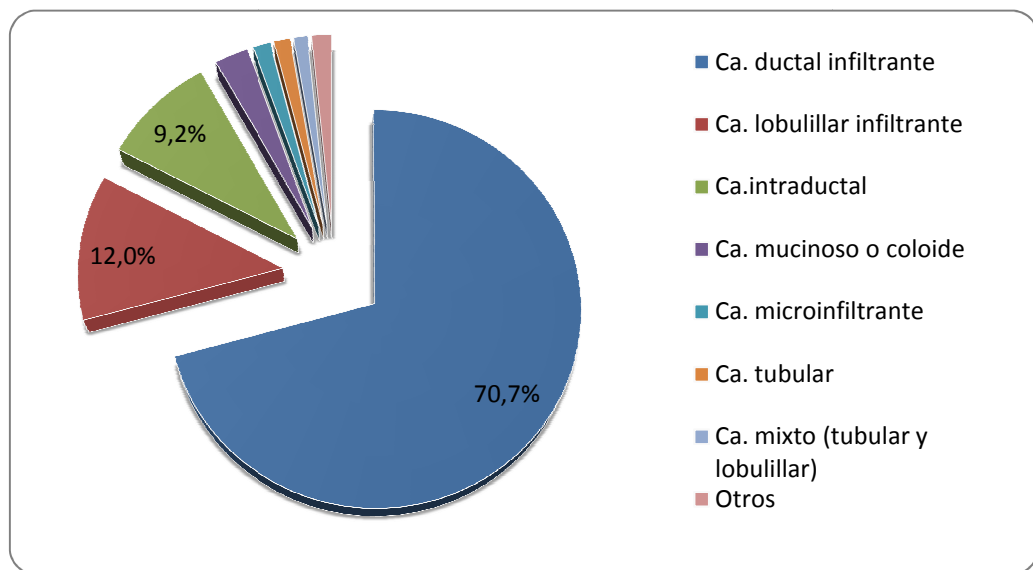
GRÁFICO 10. Clasificación anatomopatológica del tamaño tumoral según la 7ª edición de la AJCC en función del número de casos.



### Tipo histológico

El tipo histológico más frecuente fue el CDI, correspondiendo a un 70,7% (498/704) de nuestra población. Le siguen, en orden de frecuencia, el CLI en un 12% de los casos (84/704) y el CID en un 9,2% de los casos (65/704). Mucho menos frecuentes son el carcinoma mucinoso o coloide (2,7%), el carcinoma microinfiltrante (1,4%), el carcinoma tubular (1,3%), el carcinoma mixto túbulo-lobulillar (1,1%), y otro grupo heterogéneo que hemos agrupado como “otros” (1,6%), el cual engloba casos de carcinomas metaplásico, indiferenciado, adenoide quístico, apocrino, papilar, sólido papilar y sarcoma.

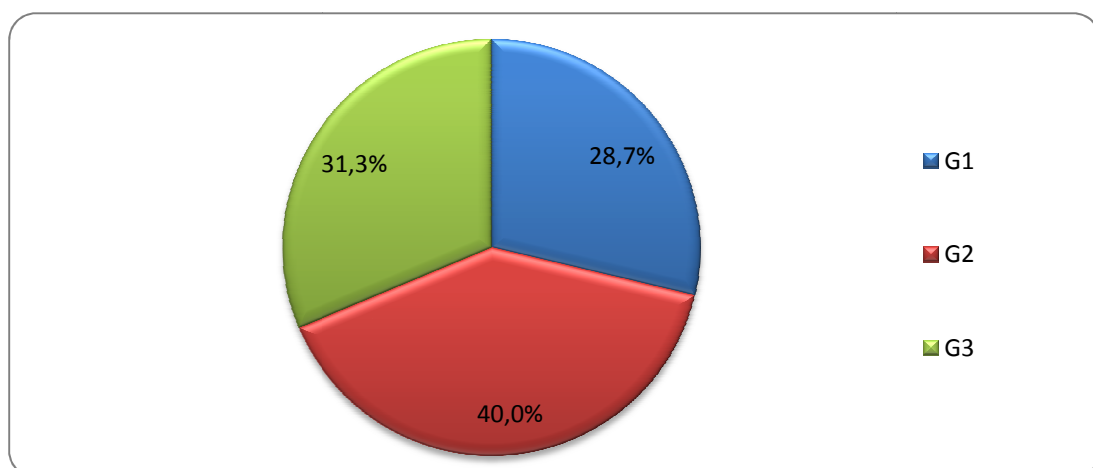
GRÁFICO 11. Tipo histológico de los carcinomas.



### Grado histológico

El grado histológico de los carcinomas según el sistema de *Bloom-Richardson* modificado fue G2 en el 40,0% de los casos, G3 en el 31,3% y G1 en el 28,7%.

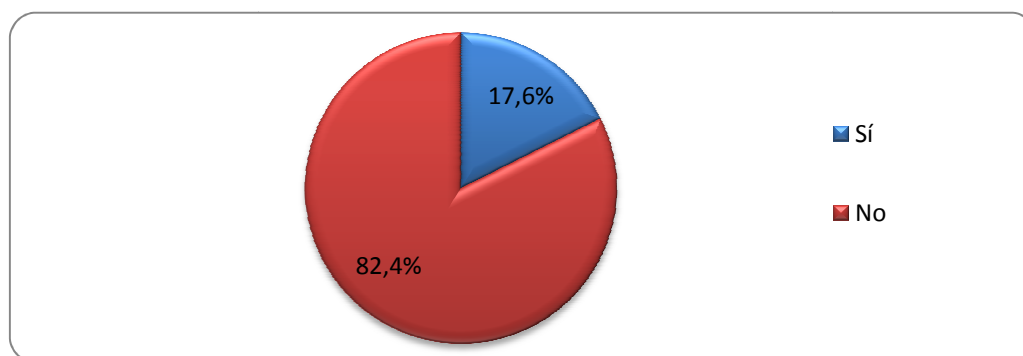
Gráfico 12. Grado histológico.



### Presencia de ILV

Únicamente se detectó presencia de ILV en el 17,6% de los casos.

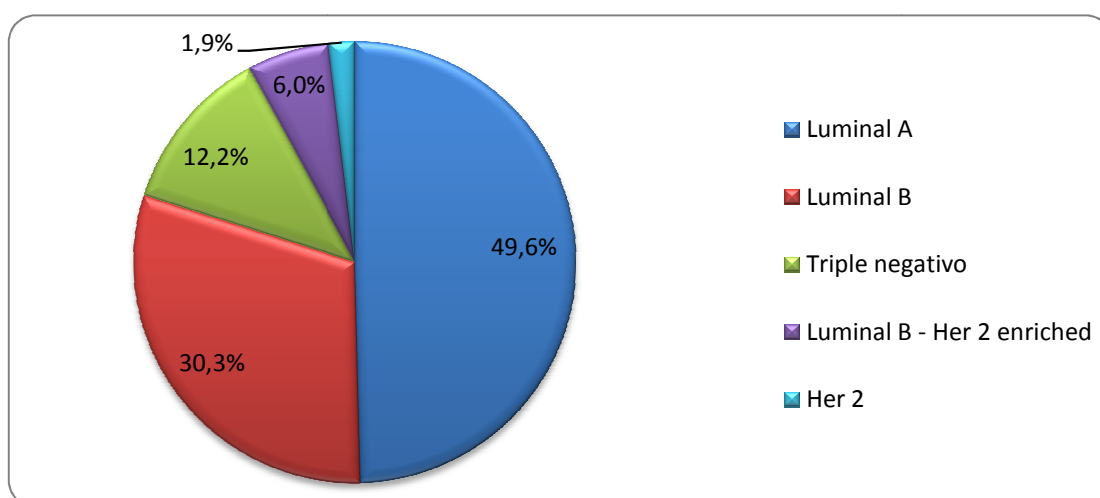
GRÁFICO 13. Presencia de ILV.



### Fenotipo molecular

El fenotipo molecular más frecuente correspondió al “luminal A” que representa un 49,6% (316/637) de nuestra población. Le sigue el “luminal B” en un 30,3% (193/637), “triple negativo o basal-like” en un 12,2% (78/637), “luminal B-Her 2” en un 6% (38/637) y finalmente el “Her 2” que tan sólo suponen un 1,9% (12/637) de nuestra población a estudio.

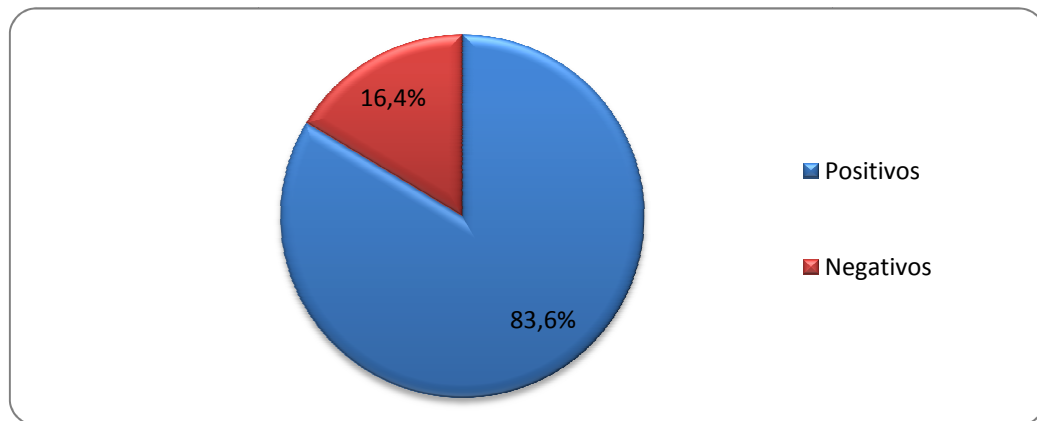
GRÁFICO 14. Fenotipo molecular.



### Expresión de receptores hormonales

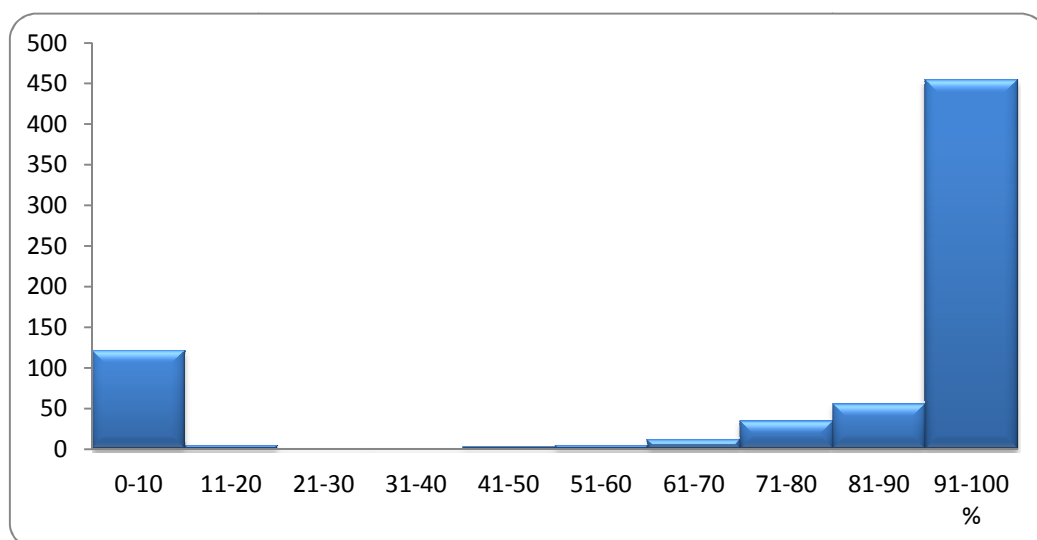
La expresión de RE fue positiva en el 83,6% de los casos y negativa en el 16,4% restante.

GRÁFICO 15. Positividad de RE.



Teniendo en cuenta el porcentaje de expresión de estos receptores, la media fue de un 77% (mediana de 100, desviación típica de 38).

GRÁFICO 16. Porcentaje de expresión de RE según el número de casos.





En cuanto a la expresión de RP, ésta fue positiva en el 72,9% y negativa en el 27,1%, mientras que la media de expresión fue del 52% (mediana de 70, desviación típica de 44).

GRÁFICO 17. Positividad de RP.

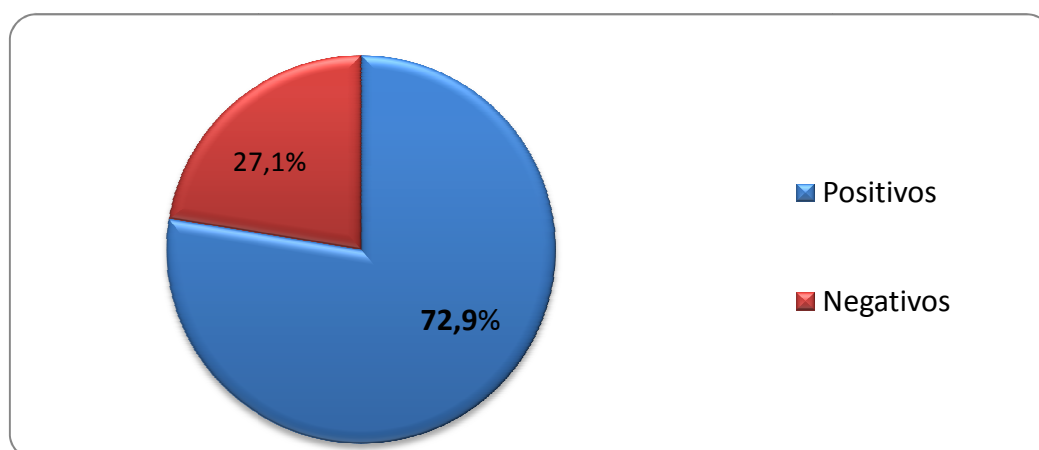
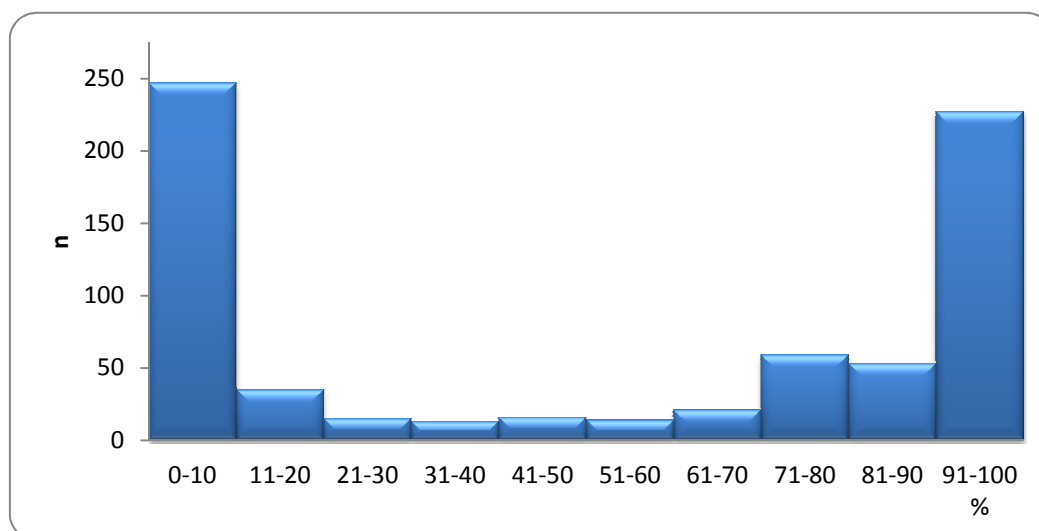


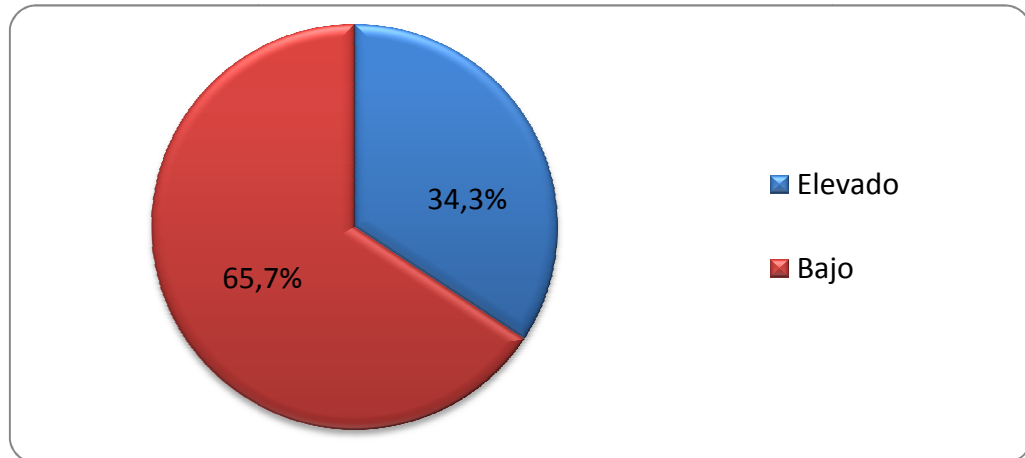
GRÁFICO 18. Porcentaje de expresión de RP según el número de casos.



### Índice de proliferación celular

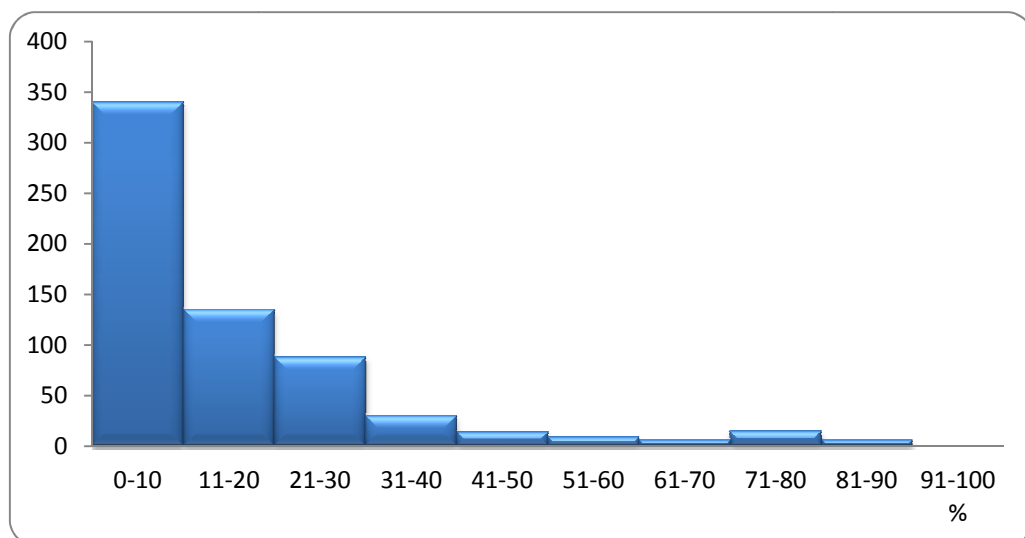
El índice de proliferación celular determinado mediante la expresión del antígeno Ki67 fue bajo en el 65,7% de los casos, y elevado en el 34,3% restante.

GRÁFICO 19. Expresión de Ki67.



Teniendo en cuenta el porcentaje de actividad del Ki67, la media fue del 18% (mediana del 10%, desviación típica del 18%).

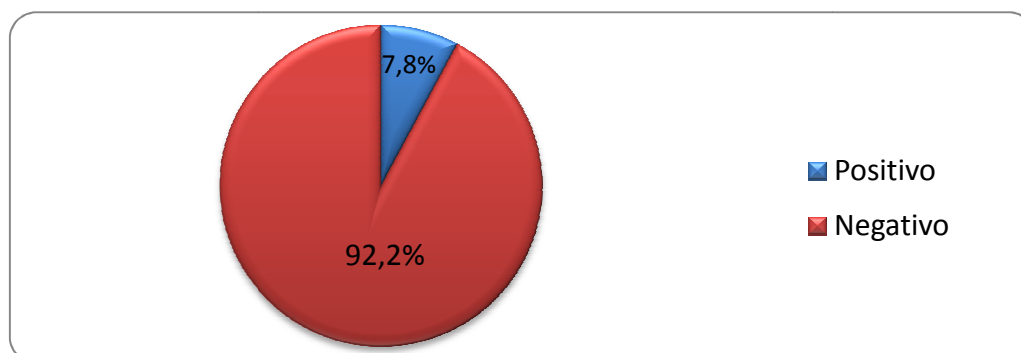
GRÁFICO 20. Porcentaje de Ki67 según el número de casos.



### Expresión del oncogén Her2/neu

El oncogén Her 2/neu no se encontraba expresado en el 92,2% de los casos mientras que el 7,8% restantes sí que lo expresaban.

GRÁFICO 21. Expresión del oncogén Her2/neu.



### Presencia de CID asociado

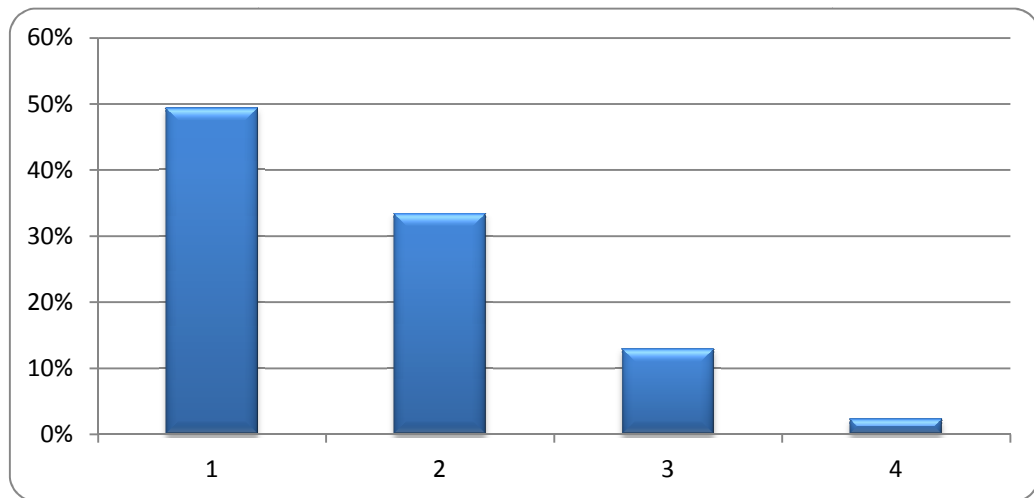
Se detectó asociación a CID en el 72,6% de los casos. El grado de este CID asociado fue de grado intermedio en el 49,0% de los casos, alto en el 36,2% y bajo en el 14,8%. El tamaño anatomopatológico del CID en los casos en los que éste se encontraba presente tuvo una media y una mediana de 20 mm (desviación típica de 16 mm). Se registró la presencia de necrosis asociada en un 51,9% de los casos.

### Número de GC extraídos

El número medio de GC extraídos fue de 1,72 (desviación típica de 0,89, mediana de 2). Concretamente, se extrajo 1 GC en el 49,4% de los casos, 2 GC en el 33,4%, 3 GC en el 12,9% y 4 GC en el 2,3%.

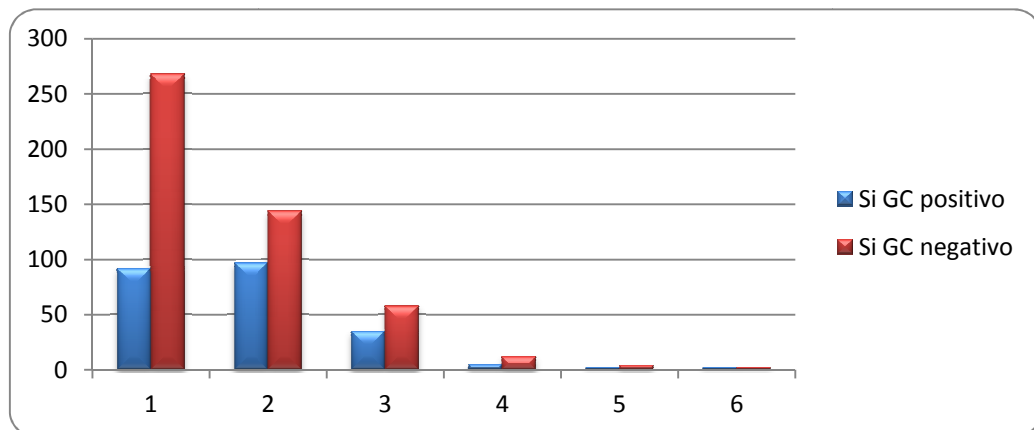
En el GRÁFICO 22 se recoge la distribución del número de GC extraídos en cada procedimiento de BSGC.

GRÁFICO 22. Número de GC extraídos.



Cuando el resultado del GC fue positivo, el número medio de GC extraídos fue de 1,86 (desviación típica de 0,916, mediana de 2), mientras que cuando el GC tuvo un resultado negativo, el número medio de GC extraídos fue de 1,65 (desviación típica de 0,87, mediana de 1).

GRÁFICO 23. Número de GC extraídos teniendo en cuenta el resultado del análisis del GC, en función del número de casos.

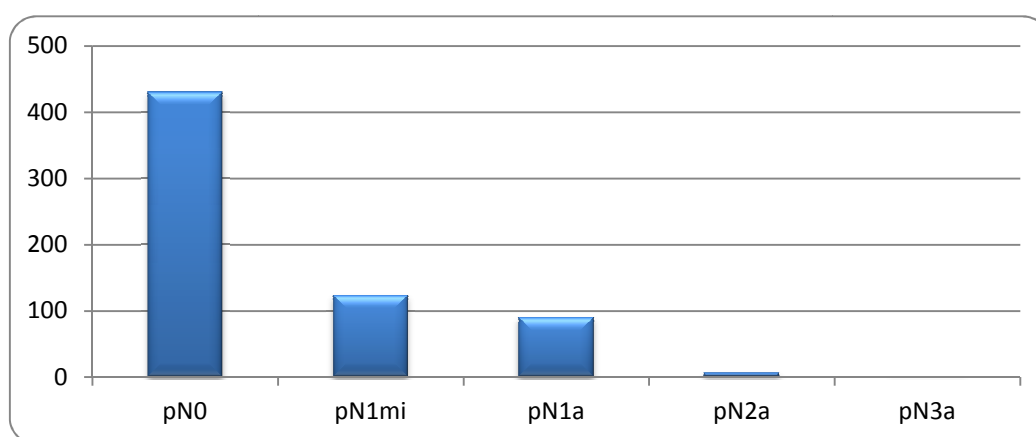


### Clasificación anatomopatológica (pTNM) según la 7ª edición de la AJCC de los casos sometidos a tratamiento quirúrgico primario

#### A) Clasificación patológica de la afectación ganglionar axilar (pN):

El 66,2% de los casos (430/650) correspondieron a un estadio pN0; el 18,9% (123/650) fue un estadio pN1mi; el 13,8% (90/650) fue un estadio pN1a; el 0,9% (6/650) fue un estadio pN2a; y el 0,2% (1/650) fue un estadio pN3a. Estos datos quedan reflejados en el Gráfico 24.

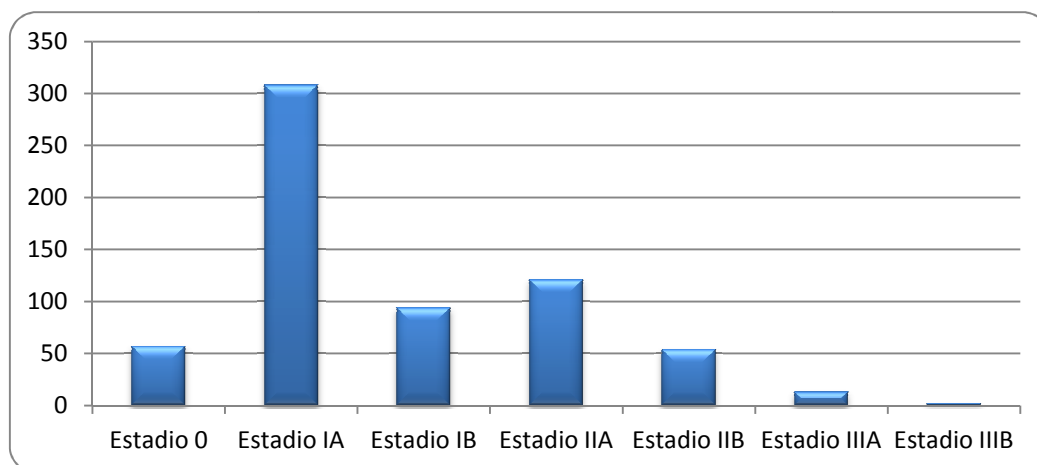
GRÁFICO 24. Clasificación patológica de la afectación nodal en función del número de casos.



#### B) Clasificación según los diferentes estadios:

El 47,5% de los casos (308/650) correspondieron a un estadio IA; el 18,6% (121/650) fue un estadio IIA; el 14,5% (94/650) fue un estadio IB; el 8,8% (57/650) fue un estadio 0; el 8,3% (54/650) fue un estadio IIB; el 2,0% (13/650) fue un estadio IIIA; el 0,3% (2/650) fue un estadio IIIB. Estos datos quedan reflejados en el Gráfico 25.

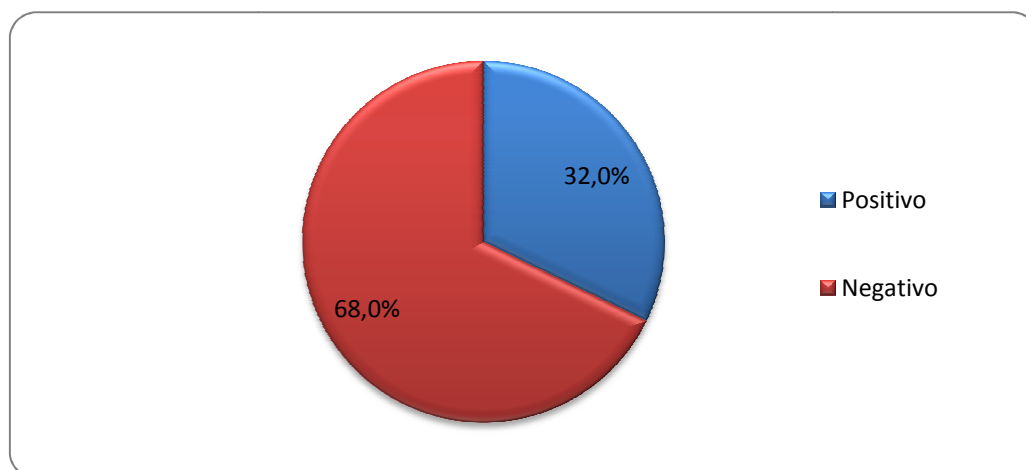
GRÁFICO 25. Clasificación de los diferentes estadios función del número de casos.



**BSGC**

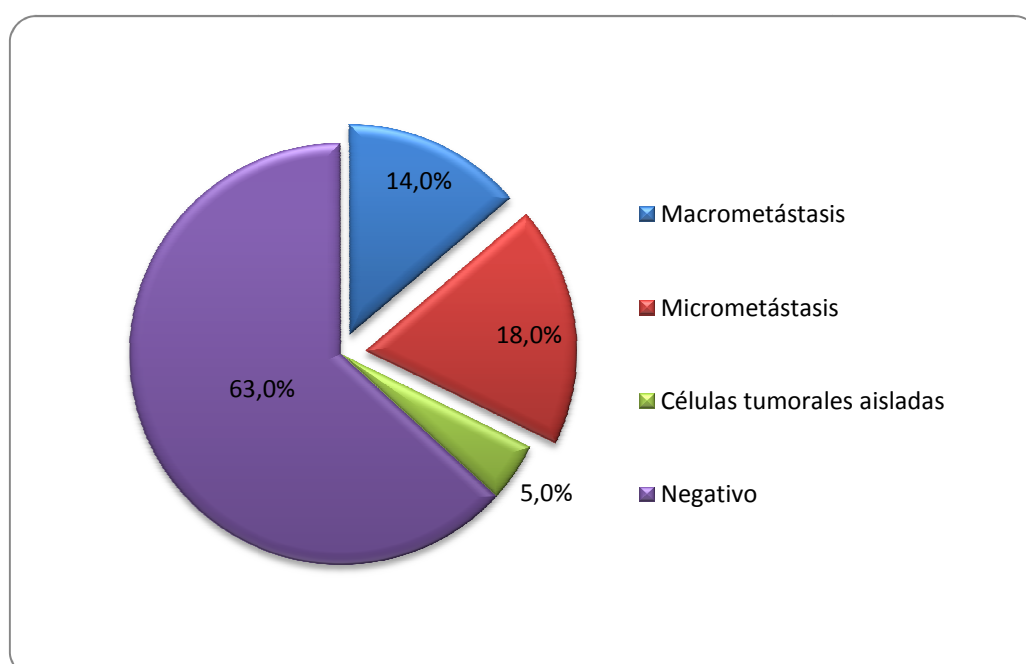
El estudio del análisis del GC resultó positivo en el 32% de los casos (227/704) y negativo en el 68% restante (477/704).

GRÁFICO 26. Resultado del análisis del GC: positivo o negativo.



En el Gráfico 27 se muestra la distribución de los diferentes resultados de GC (macrometástasis, micrometástasis, CTA, y negativo) respecto al total de casos.

GRÁFICO 27. Resultado del análisis de GC: macrometástasis, micrometástasis, CTA o negativo.



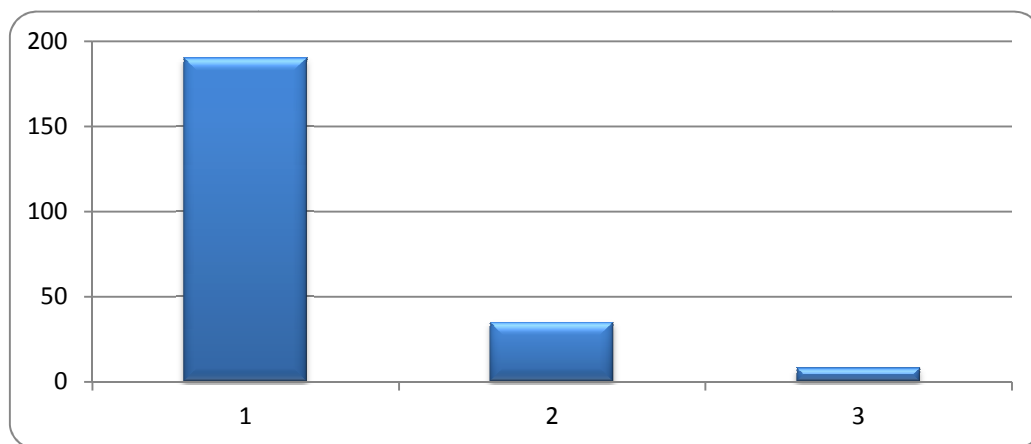
Si analizamos esta distribución de casos en función del resultado de GC (positivo o negativo) en lugar de respecto al número total de GC analizados vemos que:

- de los GC que resultaron positivos, el 42,7% de los casos (97/227) correspondieron a macrometástasis y el 57,3% (130/227) a micrometástasis
- de los GC que resultaron negativos, se encontraron CTA en el 6,7% de los casos (32/477), siendo el 93,3% restante (445/477) ganglios completamente negativos.

### Número de GC positivos

Respecto al número medio de GC positivos, éste fue de 1,22 (desviación típica de 0,496, mediana de 1).

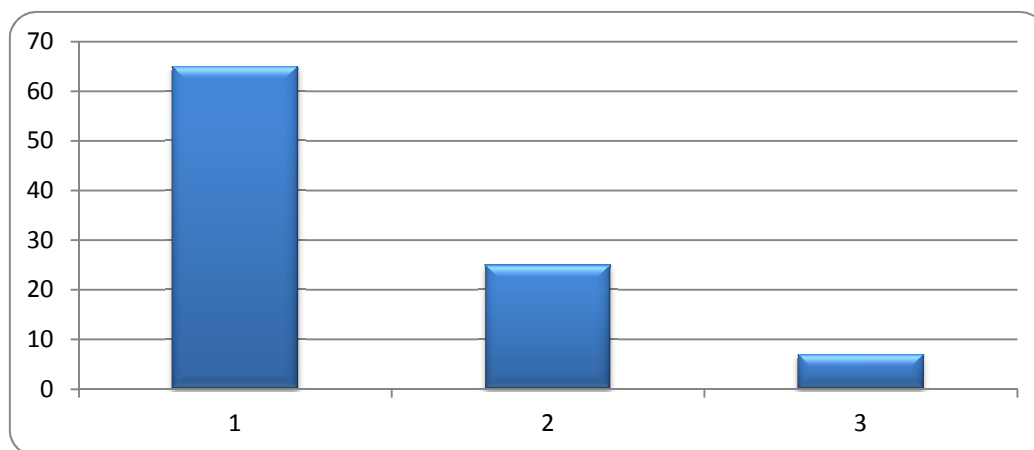
GRÁFICO 28. Número de GC positivos en función del número de casos.



Si analizamos el número de GC positivos en aquellos casos con macrometástasis en el GC vemos que el 67,0% de los casos (65/97) tenían un GC positivo, el 25,8% (25/97) tenían dos GC positivos y el 7,2% (7/97) tenían 3 GC positivos. Esto se representa en el Gráfico 29.



GRÁFICO 29. Con resultado de GC positivo para macrometástasis, número de GC positivos en función del número de casos.



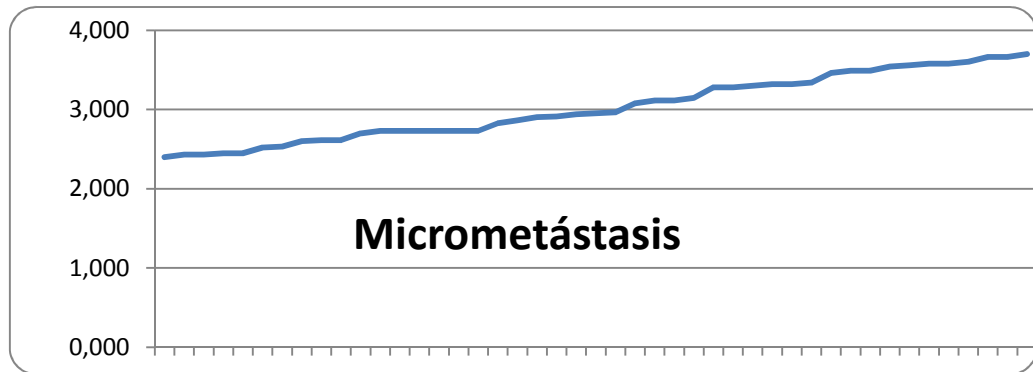
### CTT en GC positivos

Cuando el GC resultó positivo para macrometástasis, el valor medio de CTT fue de 399.830 copias de ARNm de CK19/ $\mu$ l (desviación típica de 1,167, mediana de 44.500) siendo el valor medio del log CTT de 4,8 (desviación típica de 0,8, mediana de 4,6).

En los casos con GC positivo para micrometástasis, el valor medio de CTT fue de 1.653 copias de ARNm de CK19/ $\mu$ l (desviación típica de 1.459, mediana de 890) y el del log CTT fue de 3,0 (desviación típica de 0,4, mediana de 2,9).

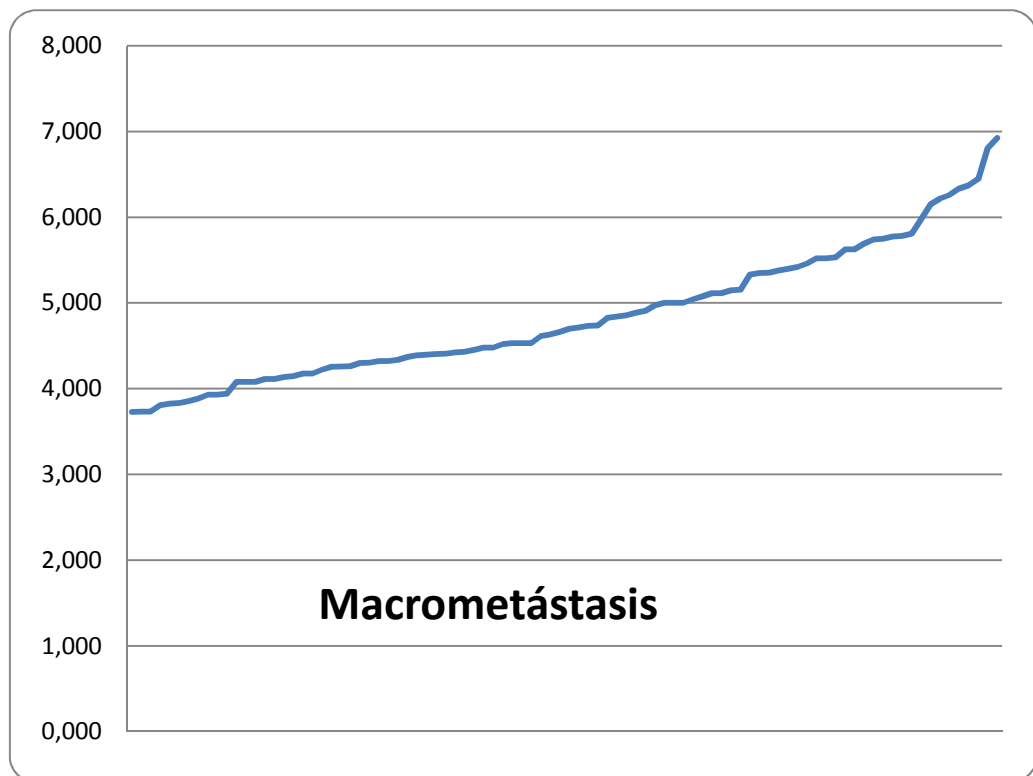
El Gráfico 30 muestra la distribución del valor del log CTT de aquellos casos con GC positivo para micrometástasis, de tal forma que en el eje de ordenadas se representan los distintos valores del log CTT de cada caso (representando cada caso sobre el eje de abscisas). Podemos observar como el resultado es una distribución lineal continua creciente de los valores del log CTT.

GRÁFICO 30. Distribución del log CTT del GC positivo para micrometástasis.



Del mismo modo, en el Gráfico 31 se muestra la distribución del valor del log CTT de aquellos casos con GC positivo para macrometástasis, correspondiendo el eje de ordenadas a los distintos valores del log CTT y el eje de abscisas cada caso. Obtenemos igualmente una distribución lineal continua creciente de los valores del log CTT.

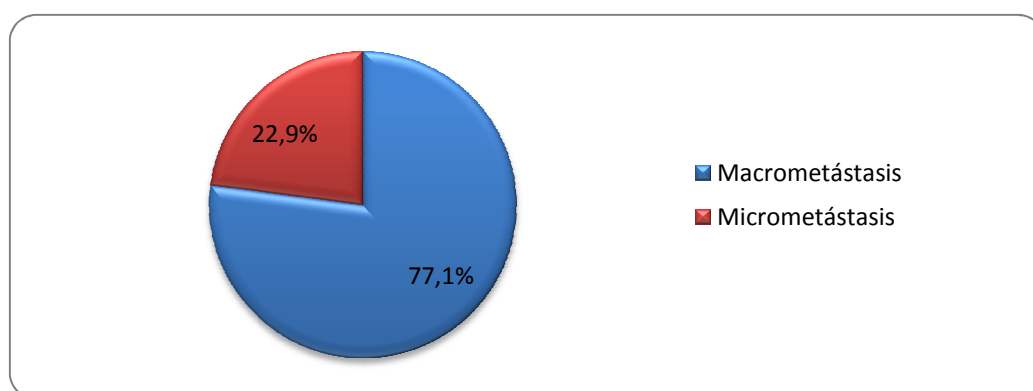
GRÁFICO 31. Datos del log CTT del GC positivo para macrometástasis.



## Realización de LA

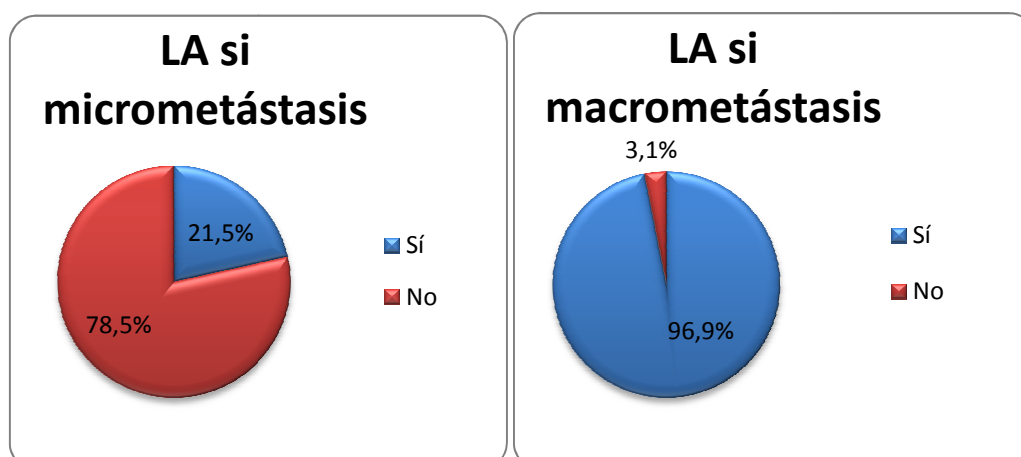
Se realizó LA en el 17,3% (122/704) de los casos. Del total de LA realizadas, un 77,1% (94/122) correspondieron a casos con GC positivo para macrometástasis y un 22,9% (28/122) a casos con GC positivo para micrometástasis.

GRÁFICO 32. Realización de LA.



De los casos con GC positivo, se completó la LA en el 53,5 % de los casos (122/227). Si tenemos en cuenta el resultado de la BSGC vemos que, cuando el GC resultó positivo para macrometástasis se realizó LA en el 96,9% (94/97) mientras que cuando el GC fue positivo para micrometástasis se completó una LA en tan sólo el 21,5% (28/130).

GRÁFICO 33. Realización de LA en función de macro- o micro-metástasis.



## Número de GNC

En el caso de que se realizara una LA, el número medio y la mediana de GNC extraídos fue de 12 (desviación típica de 5).

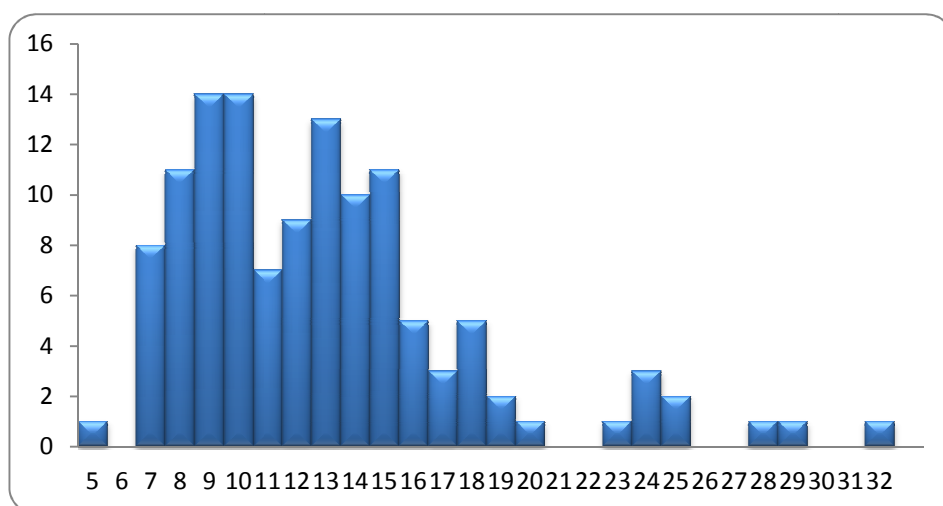
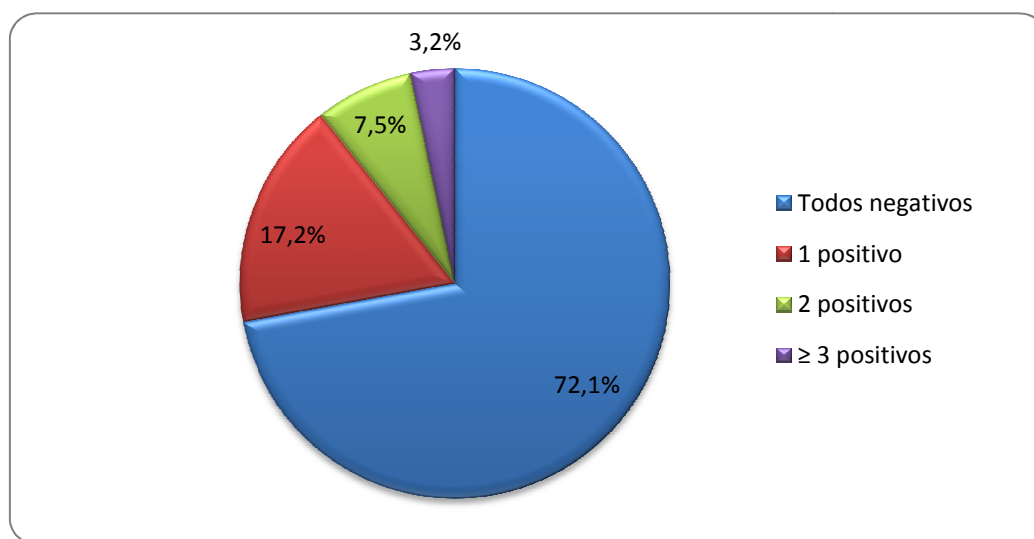


GRÁFICO 34. Número de GNC extraídos en función del número de casos.

## Estudio anatomopatológico de GNC

Respecto al estudio anatomopatológico de los GNC, éstos resultaron ser todos negativos para metástasis en el 72,1% de los casos (88/122) mientras que en el 27,9% restante (34/122) se encontró algún GNC positivo para metástasis. Teniendo en cuenta el número de GNC afectados, se encontró que en el 17,2% de los casos (21/122) tan sólo estaba afecto un GNC, en el 7,5% (9/122) hubo 2 GNC afectados, y en el 3,2% restante (4/122) hubo 3 o más GNC afectados (Gráfico 35).

GRÁFICO 35. Estudio anatomopatológico de los GNC.



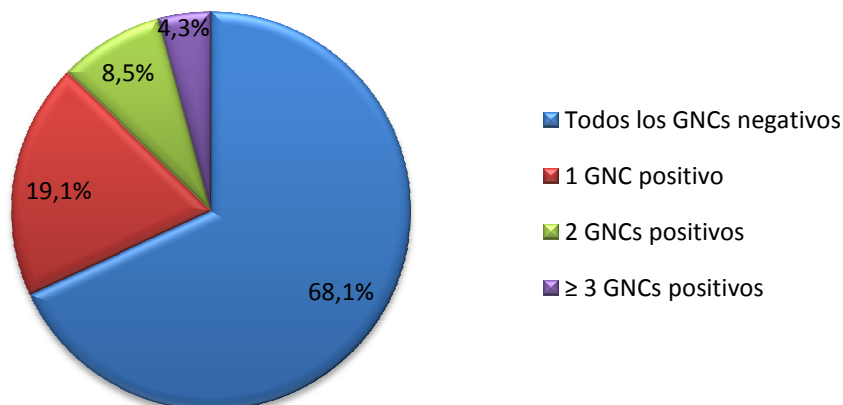
Si analizamos estos mismos datos separándolos en dos grupos en función del resultado de la BSGC (GC positivo para macrometástasis y GC positivo para micrometástasis), vemos que:

- cuando la BSGC resultó positiva para macrometástasis, todos los GNC fueron negativos en el 68,1% de los casos (64/94) mientras que en el 31,9% restante (30/94) se encontró algún GNC positivo. Desglosando según el número de GNC afectos, se encontró que el 19,1% de los casos (18/94) tenía solamente 1 GNC afecto, el 8,5% (8/94) tenía 2 GNC afectos, y el 4,3% (4/94) restante tenía  $\geq 3$  GNC metastásicos.

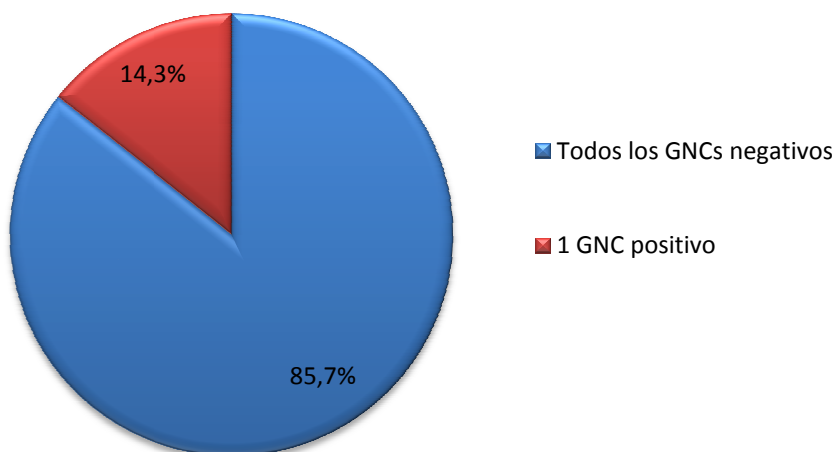
- cuando la BSGC resultó positiva para micrometástasis, todos los GNC fueron negativos en el 85,7% de los casos (24/28) mientras que en el 14,3% restante (4/28) se encontró algún GNC positivo. El número de GNC positivos fue 1 en todos los casos.

GRÁFICO 36. Estudio anatomopatológico de los GNC según el resultado de la BSGC (macrometástasis vs. micrometástasis en GC).

### Resultado GNCs si GC macrometástasis



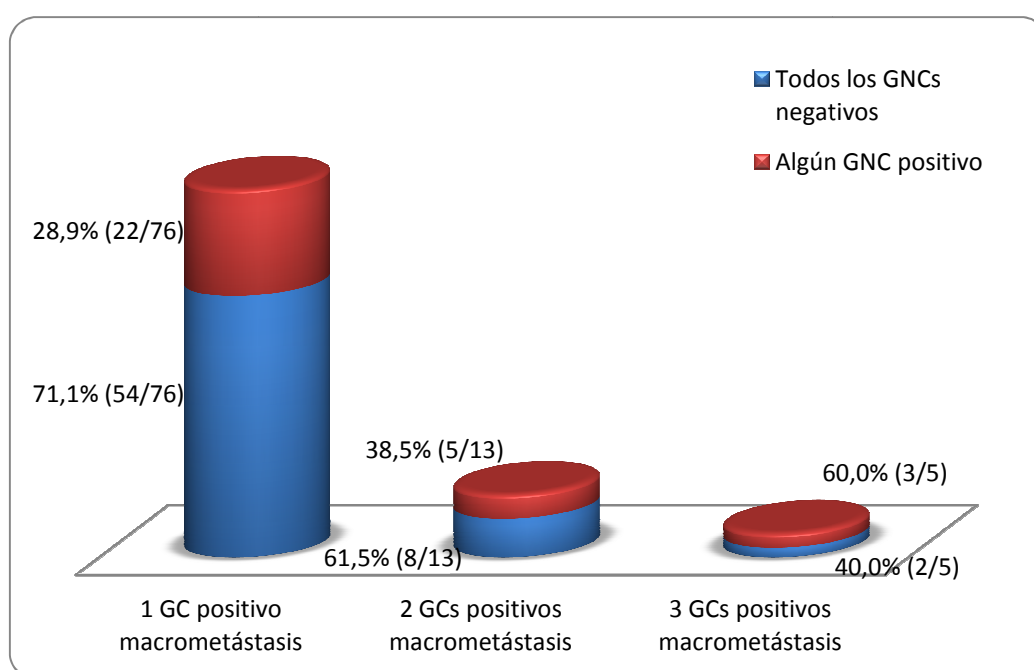
### Resultado GNCs si GC micrometástasis



Si analizamos el resultado anatomopatológico de los GNC en función del número de GC positivos para macrometástasis vemos que, cuando el número de GC positivos para macrometástasis fue de tan sólo uno, el 71,1% de los casos (54/76) tenían todos los GNC negativos y el 28,9% restante (22/76) algún GNC

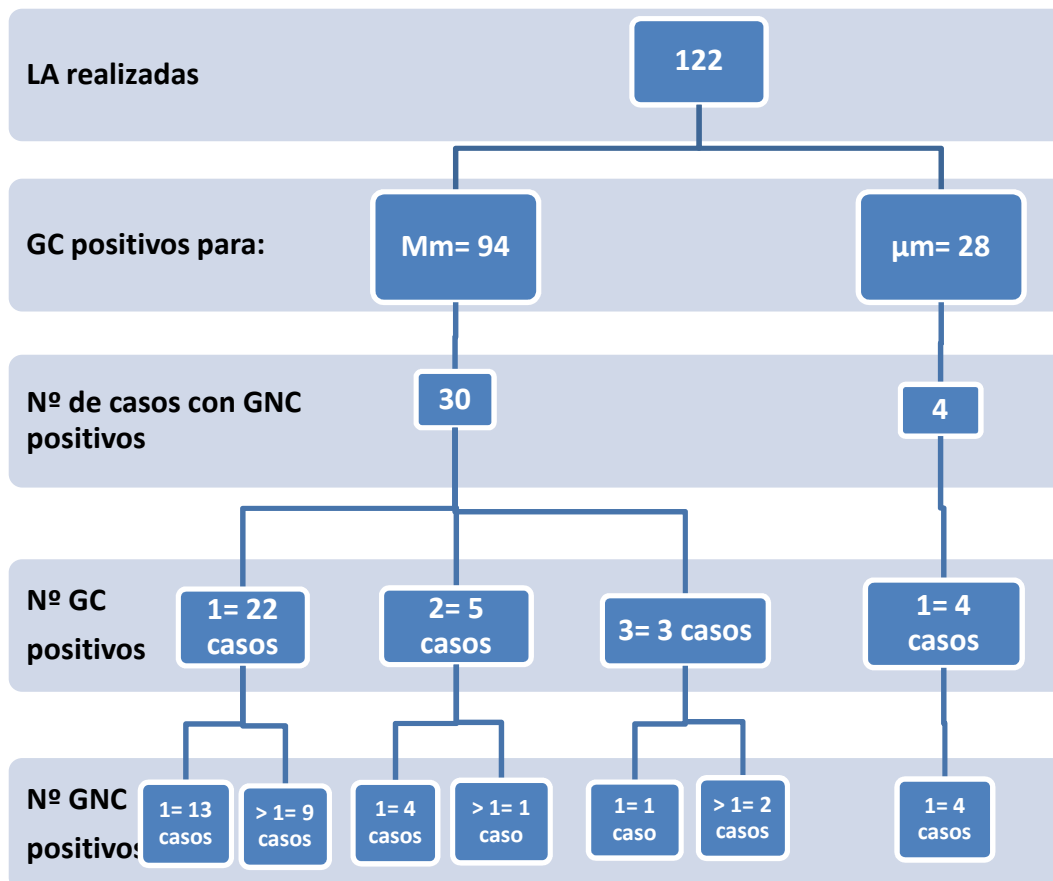
positivo. De los casos con 2 GC positivos para macrometástasis, el 61,5% de los casos (8/13) tenían todos los GNC negativos y el 38,5% (5/13) tenían algún GNC positivo. De los casos con 3 GC positivos para macrometástasis, el 40,0% (2/5) tenían todos los GNC negativos y el 60,0% (3/5) tenían algún GNC positivo. Esto queda reflejado en el Gráfico 35.

GRÁFICO 37. Resultado anatomopatológico de los GNC en función del número de GC positivos para macrometástasis.



En el Gráfico 38 se representa un esquema de los casos en los que se ha completado una LA, desglosando el número de casos en función del resultado anatomopatológico de los GC y GNC.

GRÁFICO 38. Desglose de casos en los que se ha realizado LA.



CTT en GC positivo para macrometástasis y:

- A) **todos los GNC negativos:** el valor medio de CTT fue 247.000 copias de ARNm de CK19/μl (desviación típica 848.037; mediana 48.000). El valor medio del log CTT fue 4,7 (desviación típica 0,7; mediana 4,7).
- B) **algún GNC positivo:** el valor medio de CTT fue 752.727 copias de ARNm de CK19/μl (desviación típica 1,663.477; mediana 43.000). El valor medio l log CTT fue 5 (desviación típica 0,9; mediana 4.6).



## 2. RESULTADOS ANALÍTICOS:

### A. ANÁLISIS UNIVARIANTE:

De todos los parámetros clínico-patológicos analizados, solamente se demostró asociación estadísticamente significativa con la probabilidad de afectación metastásica de GNC con el tipo y el grado histológicos y con los datos de CTT. No se demostró esta asociación con el resto de parámetros. Así, los siguientes parámetros no obtuvieron significación estadística: la edad; el estado hormonal de los pacientes; la lateralidad del tumor; la localización del tumor dentro de la mama; la focalidad tumoral; la estadificación clínico-ecográfica de la axila; el fenotipo molecular; la expresión de receptores hormonales (tanto para RE como RP); la expresión del antígeno Ki67; la expresión de Her2; la presencia de ILV; la presencia de CID o de necrosis asociados; el tamaño radiológico ni anatomopatológico del tumor; el tratamiento primario realizado (tanto si cirugía como si QT neoadyuvante); el número de GC positivos; el número de GC extraídos; ni el número de GNC extraídos.

A continuación, vamos a detallar los parámetros en los que sí se demostró asociación para obtener GNC positivos (tipo y grado histológicos y log CTT).

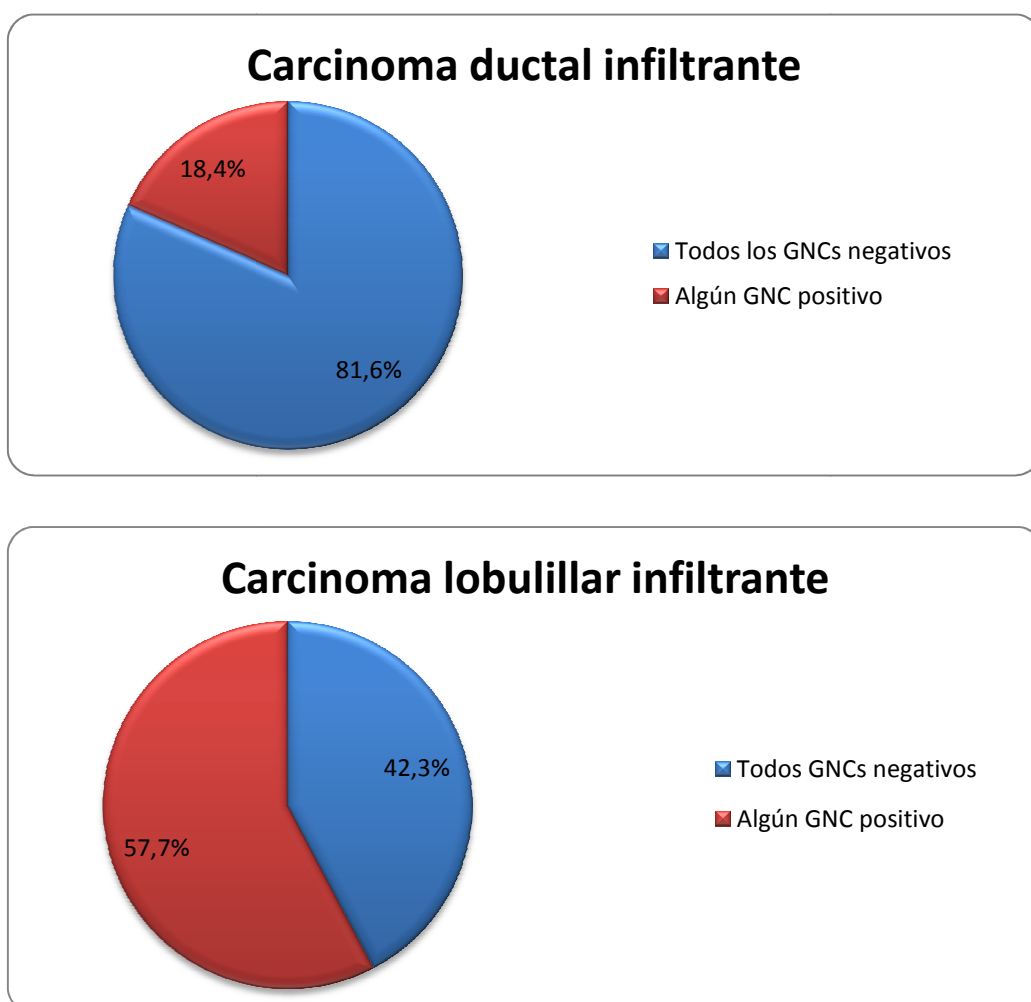
#### **Tipo histológico:**

Cuando comparamos los diferentes tipos histológicos entre sí y analizamos su probabilidad de afectación metastásica de GNC no encontramos diferencias estadísticamente significativas. Esto puede deberse, no obstante, a la segregación de los casos en los diferentes y numerosos grupos. Si consideramos únicamente aquellas 2 histologías que presentan un mayor número de casos (esto es, los carcinomas ductales infiltrantes y los carcinomas lobulillares infiltrantes) y las comparamos entre sí, entonces sí que se obtiene una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,001$ ).

En nuestra serie de casos en concreto vemos que, cuando se realizó LA, un CDI tuvo todos los GNC negativos en el 81,6% de los casos (71/87) y algún GNC positivo

en el 18,4% restante (16/87), mientras que un CLI tuvo todos los GNC negativos en el 42,3% de los casos (11/26) y algún GNC positivo en el 57,7% de los casos restante (15/26). No se calculó la OR de esta asociación puesto que la población inicial de nuestro estudio dista mucho de ser la únicamente formada por estos dos tipos histológicos por lo que no fue posible incluir este parámetro a la hora de realizar un análisis multivariante. Sin embargo, es evidente la fuerte asociación existente entre histología de CLI y una mayor probabilidad de afectación de GNC.

GRÁFICO 39. Análisis univariante relacionando tipo histológico y afectación metastásica de GNC.



**Grado histológico del tumor:**

Cuando comparamos los tres grados histológicos posibles según la clasificación de *Bloom-Richardson* modificada, no encontramos significación estadística. Tampoco la encontramos al agrupar los tumores G1 y compararlos con los tumores G2-G3. Sin embargo, si agrupamos los tumores G1-G2 y los comparamos con los tumores G3 sí que se obtiene una asociación estadísticamente significativa ( $p=0,026$ ), con una OR de 0,2 (IC 95% de 0,06-0,09;  $p=0,032$ ), de tal forma que los tumores G3 tienen menor probabilidad de tener GNC positivos. Esta incongruencia biológica se debe muy probablemente a un sesgo de selección, debida al escaso tamaño muestral en el caso de los tumores G3. Concretamente, en nuestra serie de casos, de 34 pacientes en las que se detectó metástasis adicionales en GNC, tan sólo 3 pertenecían al grupo de carcinomas G3 (7 casos G1, 19 casos G2, 3 casos G3, y en 5 casos el grado no fue evaluado).

**log CTT:**

Se demostró asociación estadísticamente significativa con el log CTT, de tal forma que, cuando todos los GNC resultaron negativos para metástasis, la media del log CTT fue 0,5 puntos menor que en el caso de encontrar algún GNC positivo ( $p=0,022$ ).

### B. ANÁLISIS MULTIVARIANTE:

Si realizamos un modelo multivariante mediante regresión logística múltiple con las variables estadísticamente significativas, “grado histológico” y “log CTT”, y lo relacionamos con la probabilidad de tener un GNC positivo se obtiene significación estadística ( $p=0,001$ ). La curva ROC resultante tiene un AUC de 0,745 (IC 95% 0,641-0,850; error típico 0,053).

Teniendo en cuenta el punto de corte de CTT aceptado clásicamente para indicación de realización de LA (5.000 copias de ARNm-CK19/ $\mu\text{L}$ , lo cual equivale a un log CTT de 3,7), procedemos a analizar nuestros casos con ese punto de corte y a comparar los dos grupos G1-G2 vs. G3:

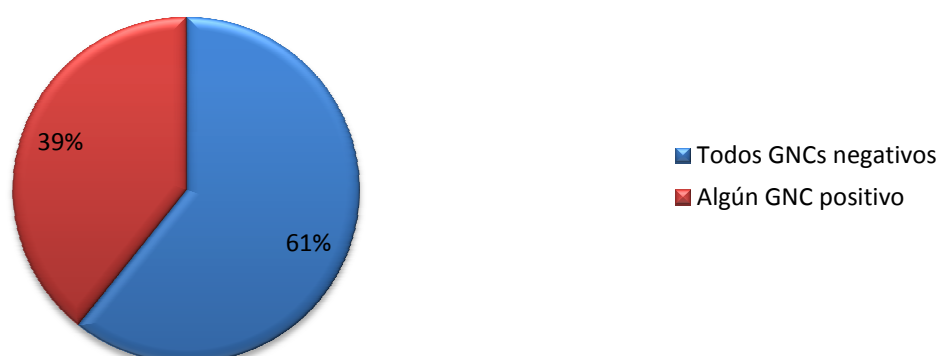
- de los casos G1-G2 con  $\leq 5.000$  copias ARNm/ $\mu\text{L}$ , el 93,3% tienen todos los GNC negativos y el 6,7% tienen algún GNC positivo, mientras que cuando el número de copias fue superior a 5.000, el 60,7% de los casos tuvieron todos los GNC negativos y el 39,3% presentaron algún GNC positivo.

GRÁFICO 40. Afectación metastásica en GNC en carcinomas G1-G2 según micrometástasis (< 5000 copias ARNm/ $\mu$ L) o macrometástasis ( $\geq$  5000 copias ARNm/ $\mu$ L) en GC.

### G1-G2 con < 5000 copias ARNm/ $\mu$ L



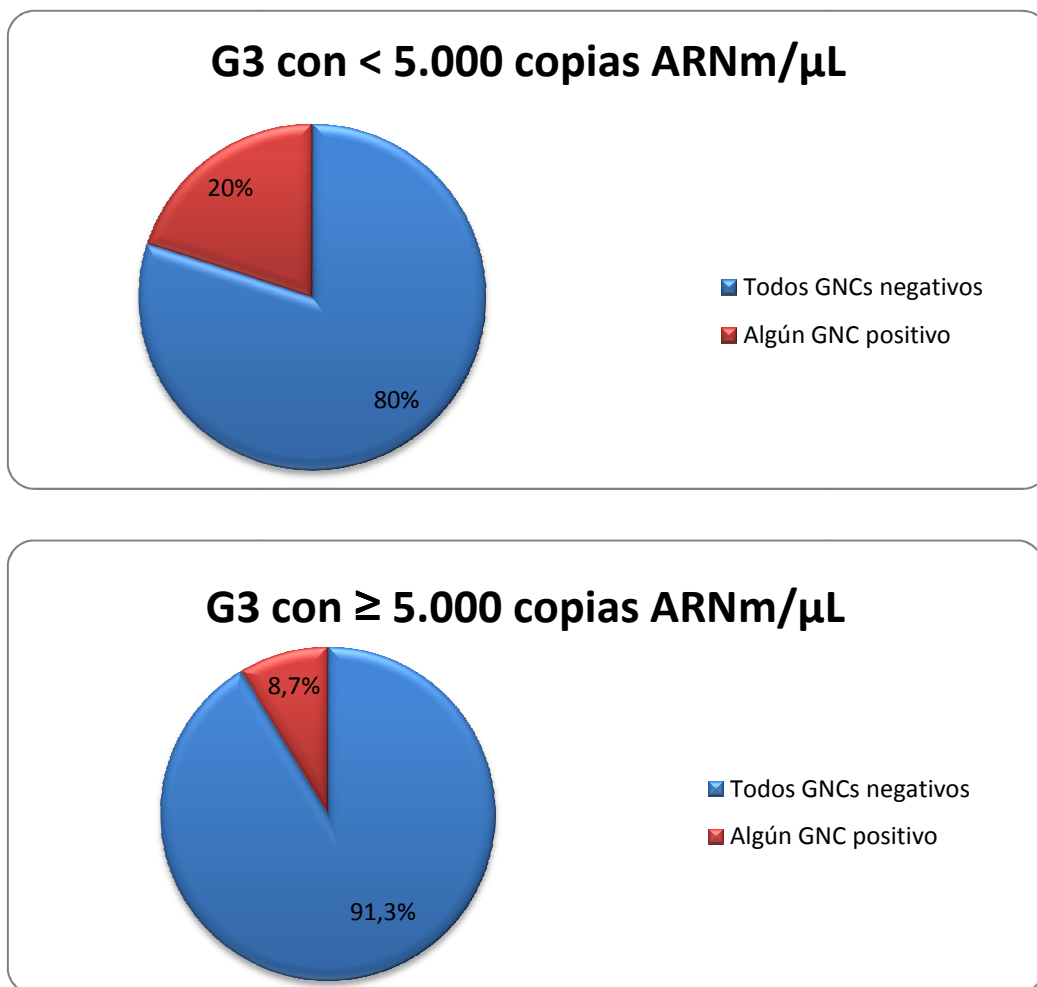
### G1-G2 con $\geq$ 5000 copias ARNm/ $\mu$ L



En este caso, la sensibilidad es del 0,96 (IC95% de 0,88-1,00), la especificidad es del 0,28 (IC95% de 0,15-0,40), el VPP es del 0,39 (IC95% de 0,27-0,52), y el valor predictivo negativo (VPN) es de 0,93 (IC95% de 0,81-1,00).

- de los casos G3 con < 5.000 copias ARNm/ $\mu$ L, el 80,0% tienen todos los GNC negativos y el 20,0% tienen algún GNC positivo, mientras que cuando el número de copias fue  $\geq$  5.000, el 91,3% de los casos tuvieron todos los GNC negativos y el 8,7% presentaron algún GNC positivo.

GRÁFICO 41. Afectación metastásica en GNC en carcinomas G3 según micrometástasis (< 5.000 copias ARNm/μL) o macrometástasis (≥ 5.000 copias ARNm/μL) en GC.



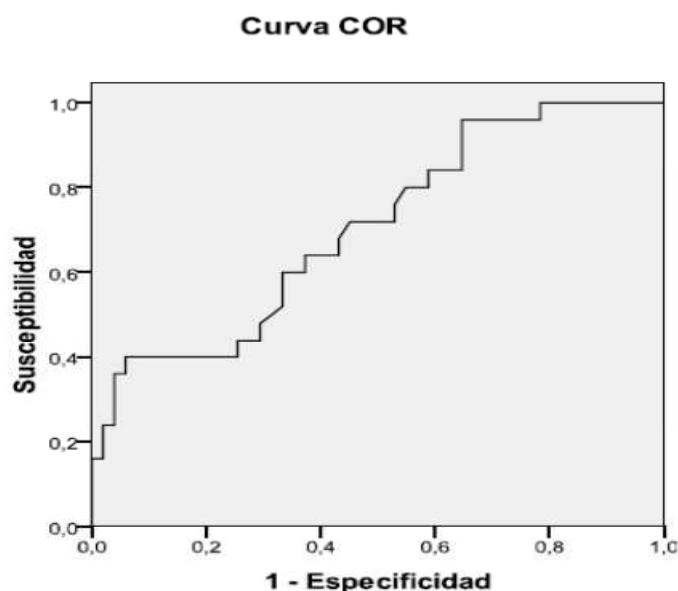
En este caso, la sensibilidad es 0,67 (IC95% 0,13-1,00), la especificidad 0,16 (IC95% 0,02-0,34), el VPP= 0,09 (IC95% 0,00-0,20), y el VPN= 0,80 (IC95% 0,45-1,00).

Si desglosamos la curva ROC en función de los dos grupos G1-G2 vs. G3 obtenemos lo siguiente:

- en los casos G1-G2, la probabilidad de tener un GNC positivo tiene una curva ROC con un AUC de 0,705 (IC95% 0.58-0.83, error típico 0,06), con una p=

0,001. En el Gráfico 42 se representa la curva ROC con los parámetros CTT y grado histológico, estratificando por grado histológico G1-G2.

GRÁFICO 42. Curva ROC incluyendo CTT y grado histológico G1-G2.



Si analizamos las coordenadas de esta curva, vemos que se puede ganar sensibilidad sin perder especificidad moviéndonos a un punto de corte de log CTT = 3,89 (que equivale a una CTT= 7762).

GRÁFICO 43. Coordenadas de la curva ROC “CTT y grado histológico G1-G2”.

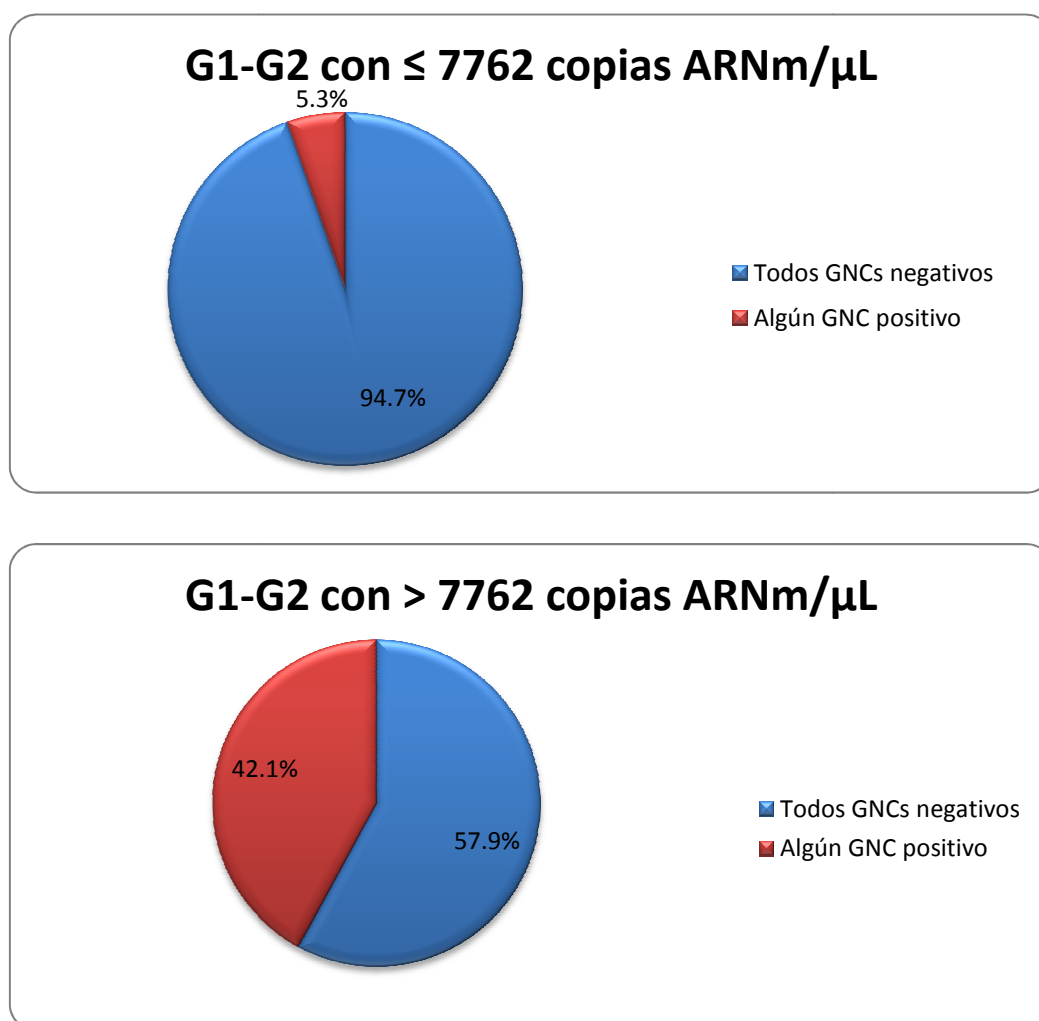
**Coordenadas de la curva**  
Variables resultado de contraste:cttlog

Positivo si es mayor o igual que <sup>a</sup>	Sensibilidad	1 - Especificidad
3,51115	,960	,784
3,56985	,960	,765
3,62127	,960	,745
3,69515	,960	,725
3,72997	,960	,706
3,78245	,960	,686
3,84432	,960	,667
3,89277	,960	,647
3,93447	,880	,647
4,00935	,840	,647
4,09573	,840	,608

## RESULTADOS

Esto implica que, de los casos G1-G2 con  $< 7.762$  copias de ARNm-CK19/ $\mu\text{L}$ , el 94,7% tienen todos los GNC negativos y el 5,3% tienen algún GNC positivo, mientras que cuando el número de copias fue  $\geq 7.762$ , el 57,9% de los casos tuvieron todos los GNC negativos y el 42,1% presentaron algún GNC positivo.

GRÁFICO 44. Afectación metastásica en GNC en carcinomas G1-G2 según CTT  $< 7762$  copias ARNm/ $\mu\text{L}$  o  $\geq 7762$  copias ARNm/ $\mu\text{L}$ .



En este caso, la sensibilidad es 0,96 (IC95% 0,88-1,00), la especificidad es 0,35 (IC95% 0,22-0,48), el VPP= 0,42 (IC95% 0,29-0,55), y el VPN= 0,95 (IC95% 0,85-1,00).

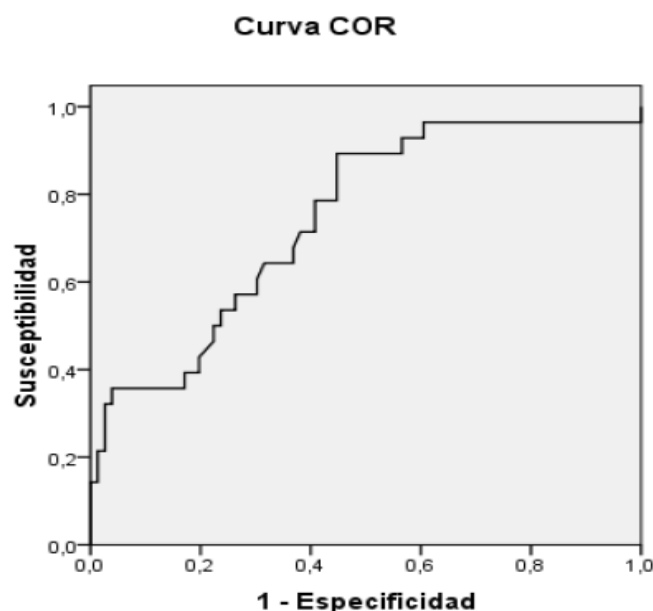
- en los casos G3, al realizar la curva ROC incluyendo CTT y grado histológico estratificando según grado histológico G3, se pierde la significación estadística ( $p=$



0,36). La curva ROC que obtenemos tampoco resulta significativa pues tiene un AUC de 0,61 (IC 95% 0,00-1,00).

Ni el modelo multivariante ni la curva ROC resultan significativos para el grupo de casos G3, posiblemente debido al escaso tamaño muestral ( $n=3$ ). El hecho de que en nuestra serie de casos el grado histológico se asocie de manera estadísticamente significativa con la probabilidad de afectación de GNC puede ser un resultado falseado por la existencia de un sesgo de selección, lo que hace que no podamos aceptar como válidos estos resultados en la práctica clínica. Es por eso que, a continuación, vamos a realizar un modelo predictivo para afectación de GNC con la única variable que ha demostrado asociarse de forma independiente y estadísticamente significativa con la probabilidad de afectación de GNC en nuestra serie de casos: la CTT (y log CTT). Así, creamos una curva ROC incluyendo únicamente a la variable CTT: la curva resultante tiene un AUC de 0,624 (IC 95% 0,505-0,742, error típico 0,060).

GRÁFICO 45. Curva ROC incluyendo CTT.



Teniendo en cuenta el punto de corte de  $CTT \geq 5.000$  copias ARNm/ $\mu$ L para indicación de realización de LA, procedemos a analizar nuestros casos y vemos que, de los casos con  $< 5.000$  copias en el GC, el 85,7% tienen todos los GNC negativos y

el 14,3% tienen algún GNC positivo, mientras que cuando el número de copias fue superior a 5.000, el 68,1% de los casos tuvieron todos los GNC negativos y el 31,9% presentaron algún GNC positivo (GRÁFICO 36). En este caso, la sensibilidad es 0,879 (IC95% 0,768-0,990), la especificidad es 0,253 (IC95% 0,159-0,347), el VPP= 0,319 (IC95% 0,223-0,415), y el VPN= 0,840 (IC95% 0,696-0,984).

Si analizamos las coordenadas de esta curva, vemos que se puede ganar sensibilidad sin perder especificidad moviéndonos a un punto de corte de log CTT = 3,77 (que equivale a una CTT= 5.888).

GRÁFICO 46. Coordenadas de la curva ROC “CTT”.

Coordenadas de la curva		
Variables resultado de contraste:cttlog		
Positivo si es mayor o igual que <sup>a</sup>	Sensibilidad	1 - Especificidad
3,47688	,879	,807
3,52563	,879	,795
3,56985	,879	,783
3,62127	,879	,759
3,69515	,879	,747
3,72997	,879	,735
3,76929	,879	,711
3,81613	,848	,711
3,82929	,848	,699

Podemos afirmar que, de los casos con < 5.888 copias de ARNm-CK19/μL, el 85,7% tienen todos los GNC negativos y el 14,3% tienen algún GNC positivo, mientras que cuando el número de copias fue superior a 5.888, el 68,1% de los casos tuvieron todos los GNC negativos y el 31,9% presentaron algún GNC positivo. Con este punto de corte, la sensibilidad es 0,88 (IC95% 0,77-0,99), la especificidad 0,29 (IC95% 0,19-0,39), el VPP= 0,33 (IC95% 0,23-0,43), y el VPN= 0,86 (IC95% 0,73-0,99).

# DISCUSIÓN



## DISCUSIÓN

### 1. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y ANATOMOPATOLÓGICAS:

En la muestra estudiada, las principales características clínicas y anatómopatológicas de las pacientes a las que se realizó BSGC se ajustan a las características de la población descrita en los principales estudios de la literatura.

#### Edad

Tanto la edad media como la mediana al diagnóstico en nuestra población (58 años) son datos concordantes con las publicadas en los diferentes estudios sobre CM en la literatura mundial (7) (173) (174) (175) (176) (177).

#### Situación Hormonal de las pacientes

El porcentaje de pacientes postmenopáusicas (68% - 480/703) es similar al resto de estudios sobre CM y sobre BSGC en CM en la literatura mundial (108) (173) (174) (175) (176) (178). Así, en el ensayo AMAROS (108) un 61% de las pacientes se encontraba en estado postmenopáusico. En otro amplio estudio realizado por *Dunnawald LK et al.* sobre una población de 155.175 mujeres con CM el porcentaje de mujeres postmenopáusicas es del 76% (178).

#### Diagnóstico

El diagnóstico temprano del CM mejora las cifras de morbilidad a medio y a largo plazo (179) de tal modo que los esfuerzos se encaminan a efectuar diagnósticos de CM lo más precozmente posible, mediante campañas de *screening* apoyadas en campañas de información y las nuevas tecnologías de diagnóstico por imagen desarrollada en los últimos años.

Aun así la mamografía continúa siendo hoy en día la prueba por excelencia en el diagnóstico mamario en la mayoría de los casos ya que muestra una sensibilidad

próxima al 80% (180). Los cánceres *in situ* y los carcinomas subclínicos se siguen beneficiando en su hallazgo con esta técnica y las microcalcificaciones siguen siendo de diagnóstico radiológico casi exclusivo.

Respecto a la ecografía mamaria, ésta es una prueba complementaria fundamental a la mamografía. No se debe emplear en un primer tiempo como método de *screening* poblacional principalmente por dos motivos: el primero es que las microcalcificaciones son muy difíciles de detectar por ultrasonidos. Y el segundo motivo es que es una técnica explorador-dependiente que puede llevar mucho tiempo su realización. No obstante, la realización de una ecografía complementaria ante determinados hallazgos mamográficos o en determinadas situaciones, aumenta la exactitud diagnóstica.

En nuestra serie de casos, podemos observar cómo el 86,6% de los carcinomas fueron catalogados como BIRADS 4 ó 5 mediante una mamografía y, al realizar una ecografía complementaria, el porcentaje de lesiones catalogadas como BIRADS 4 ó 5 aumenta hasta un 97,2% de los casos.

### **Tipos Histológicos**

Respecto a la distribución de los diferentes subtipos histológicos, encontramos que los porcentajes obtenidos (70,7% CDI; 11,9% CLI; 9,2% CID; 2,7% carcinoma mucinoso; 1,4% carcinoma microinfiltrante; el 1,3% carcinoma tubular; el 1,1% carcinoma mixto y el 1,6% a otros) son muy similares a los publicados en la literatura (178) (181) (182).

### **Grado Histológico**

La mayoría de los carcinomas son de grado histológico G2 (un 40%), lo cual concuerda también con lo publicado en la literatura (132) (178) (183) (184) (185).

### **Receptores hormonales**

Un alto porcentaje de las pacientes tuvieron receptores hormonales positivos (el 83,6% de los casos expresaban RE). Este hecho también queda reflejado en

otros estudios (178) (185) (186) (187) (188) (189). En este sentido, podemos citar a una serie de 61.309 casos de CM publicada por *Parise et al.* (189), en la cual el 80,0% de las pacientes tuvo RE y/o RP positivos. En la serie de 155.175 pacientes con CM publicada por *Dunnawald LK et al.* (178) este porcentaje fue del 79%.

## **Her2 neu**

Respecto a la expresión de Her2, obtuvimos un 7,9% lo cual dista bastante del 23,0% registrado en otras series como la de *Parise et al.* (189). La explicación a esta diferencia se debe a que los carcinomas que expresan Her2 presentan, en el momento del diagnóstico, sospecha clínica y/o ecográfica de los ganglios axilares lo que, si se confirma anatomopatológicamente mediante PAAF o BAG, hace que deban ser excluidos de realización de BSGC.

## **Fenotipos Moleculares**

Probablemente por este mismo motivo, los fenotipos con un mayor compromiso ganglionar al diagnóstico (Her-2) están infrarrepresentados, ya que esta condición los excluye de la realización de BSGC, al menos fuera de ensayo clínico.

## **Tamaño tumoral**

Respecto al tamaño tumoral de los carcinomas susceptibles de tratamiento quirúrgico primario, los datos de nuestro estudio (pTis= 10%; pT1= 70,6%; pT2= 17,9%; pT3= 1,5%) también son muy similares a los recogidos en importantes estudios multicéntricos randomizados (136) (178) (183) (185). Podemos citar dos ejemplos como son el estudio ALMANAC (183), en el que el 72% fueron T1, el 26% fueron T2 y el 2% fueron T3, mientras que en el estudio NSABP B-32 (136) el 80,2% fueron estadios T1, el 17,8% T2 y el 2,1% T3.

### 2. EFICACIA DE LA BSGC:

La tasa de detección de GC, definida como la proporción de pacientes en las que se ha encontrado al menos un GC en la intervención quirúrgica, fue del 100%.

Si atendemos a los criterios de evaluación y estándares de calidad de la reunión de consenso sobre la BSGC en el CM de la SESPM (190) la eficacia en la detección del GC es uno de los requisitos imprescindibles para implementar la BSGC en el proceso asistencial del CM. Se establecen diferentes niveles:

- Nivel 0: no se cumplen los requisitos mínimos para la buena práctica de la BSGC, eficacia de detección <85%.
- Nivel I: se cumplen los requisitos mínimos, pero el resultado es francamente mejorable.
- Nivel II: Se cumplen con suficiencia, detección entre 85-95%.
- Nivel III: los requisitos se cumplen en grado de excelencia, eficacia en la detección >95%.

Por tanto, la eficacia en la detección obtenida en este estudio se halla en el nivel de excelencia. Esto es gracias a la realización de la técnica por parte de profesionales experimentados y especializados en BSGC y al uso de técnicas de imagen fusionadas con linfogammagrafía y SPECT-TAC.

En las diferentes series publicadas en la literatura mundial, el GC se identifica de forma constante en aproximadamente el 96% de los casos (40) (82) (131) (132) (133). La tasa de falsos negativos originalmente descrita fue del 5-10% (con una sensibilidad del 90 al 95%). Sin embargo, con cirujanos experimentados en esta técnica, se han descrito tasas más bajas (40) (82) (131) (132) (133) (134).

En las pacientes en las que existen varios GC, la cuestión de cuántos ganglios se debe extraer ha supuesto un amplio debate. Si se extrae un número insuficiente se



pueden dejar ganglios afectados (191), mientras que la exéresis de demasiados ganglios va en contra de la consideración de la BSGC como un procedimiento mínimamente invasivo.

En el presente estudio, se extirparon aquellos ganglios que presentaran un número de cps superior al 10% del ganglio más radiactivo. Autores como *Chung et al.* (192) analizan cuál es la precisión de este planteamiento llevando a cabo un estudio en 6.369 pacientes utilizando para BSGC una técnica mixta. Concluyen que la regla del 10% es una guía sólida y únicamente deja sin identificar el 1,7% de todos los ganglios positivos en pacientes con múltiples GC, siendo esta pauta igualmente válida para todos los subgrupos de pacientes. No obstante, otros autores argumentan que la estricta observancia de esta regla parece resultar en la eliminación de un número excesivo de ganglios linfáticos, lo cual podría contribuir a una mayor morbilidad para la paciente y a un exceso de los costos de salud (193).

La media de GC extraídos fue de 1,72 y la mediana de 2, lo que resulta algo inferior a la de los estudios precedentes: *Goyal et al.* (194) tienen una media de 2,2 con un rango de 1 a 9 mientras que *Zakaria et al.* (195) tienen una media de 2,5 con un rango de 1 a 9, y en el nivel II de la clasificación de la SESPM (190).

*Goyal et al.* (194) analizaron los factores asociados a la extracción de múltiples GC y si existe un límite superior para el número de GC que se deben obtener. Concluyen que la identificación de múltiples GC, cuando estén presentes, conlleva la reducción de la tasa de falsos negativos y sugieren que la extracción de más de cuatro GC es innecesaria. Otros autores también sugieren que cuatro GC debería ser el umbral máximo y que la extracción de un número mayor no mejoraría la precisión de la estadificación ganglionar (195) (196) (197).

El rango que hemos obtenido ha sido también menor puesto que en ningún caso se han biopsiado más de 6 GC. Concretamente, se obtuvieron 4 o menos GC en el 98% de los casos, y 3 o más GC en un 17,2%, de forma similar al estudio IBCSG

23-01 (164) en el cual este porcentaje fue del 18% en el brazo de disección axilar y del 16% en el brazo de no disección axilar.

Así pues, el porcentaje de identificación obtenido cumple los estándares de calidad vigentes y la media de GC extraídos ha sido menor que en otros estudios.

### 3. AFECTACIÓN METASTÁSICA DEL GC:

Hoy en día, en pacientes con CM sin evidencia clínica ni ecográfica de afectación axilar, la técnica estándar para conocer el estado de los ganglios linfáticos regionales es la realización de una BSGC. La introducción del concepto de GC y su aplicación clínica nos permite conocer dicho estatus ganglionar sin necesidad de realizar una LA sistemática. En definitiva la BSGC se ha mostrado tan eficaz como la LA en cuanto a SLE y SG (2) y su finalidad se muestra más que terapéutica, pronóstica y decisiva en la futura planificación terapéutica.

Es verdad que la tasa de falsos negativos asociados a esta técnica ronda el 5% (198), pero este porcentaje no se traduce en igual tasa de recidivas, que es realmente muy baja, entre el 0,3 y el 0,12%. Por ello se acepta, casi unánimemente, que cuando el GC es negativo (60-70% de casos) no es preciso completar la LA (199), lo que permite reducir la morbilidad asociada a la misma. Estos datos se confirman en nuestra serie de casos, en donde la tasa de resultado de GC negativo para metástasis es del 68,0%, y no hemos recogido ninguna recidiva regional.

El porcentaje de metástasis en GC global es un dato bruto que en sí mismo nos da escasa información, puesto que está en dependencia de múltiples factores, principalmente de las características de los tumores que se incluyen en la muestra. En nuestro caso fue del 32% (227/704). Como marco de referencia, sirvan de ejemplo los resultados publicados por *Bilimoria et al.* (200) en donde se analiza una amplia serie de 403.167 pacientes con tumores T1 a T3 a las que se realizó BSGC entre 1998 y 2005. Presentaron metástasis ganglionares 97.314, esto es el 24,1%. Otros autores como *Sanjuán et al.* (201) encontraron tumores cuya mediana de tamaño fue 17 mm (en nuestro caso fue de 12 mm) un porcentaje de positividad del 25,2% en fase de validación y del 26,2% en fase de aplicación clínica. *Van der Ploeg et al.* (202) obtuvieron un porcentaje de positividad del 26,6% en 1019 pacientes. En los 69 estudios que cumplen los criterios de inclusión del metanálisis de *Kim et al.* (203) los porcentajes de positividad fueron muy variables, del 17 al

74%. En el ensayo aleatorizado NSABP B-32 el GC fue positivo en el 26% de las pacientes en los dos brazos (2)

La aparición de la técnica molecular OSNA en la última década marcó el inicio de una nueva etapa en la historia del GC en el CM. Esta técnica permite el diagnóstico estandarizado intraoperatorio del GC reduciendo a cero el número de segundas intervenciones para la LA (4). Diferentes estudios han demostrado que el método OSNA es tan preciso como los métodos histológicos convencionales para la detección de metástasis en el GC (4) (204) (205) (206).

### **Micrometástasis**

El nuestro estudio, el porcentaje global de GC positivo para micrometástasis fue del 18%, lo que supone el 57,3% de los casos con resultado de GC positivo para metástasis.

En la literatura mundial existe una importante dispersión en la tasa de detección de micrometástasis. Al comparar esta tasa de detección de los diferentes estudios con la obtenida en nuestra muestra, podemos observar cómo nuestra tasa de detección de micrometástasis es superior a los datos publicados.

Para algunos autores, los porcentajes de micrometástasis se sitúan entre el 18,3 y el 58,9% de todas las metástasis del GC, con una media de 44,6% (207) y para otros en porcentajes discretamente inferiores, entre el 15 y el 48% (208). Encontramos autores que obtienen unos porcentajes en el extremo inferior como *Bilimoria et al.* (200) que muestran un porcentaje de macrometástasis del 89,5% y de micrometástasis del 10,5% y en el ensayo aleatorizado EORTC 10981-22023 AMAROS (160) con una población de 1.953 pacientes que presentó un porcentaje de positividad del 34%, siendo un 63% macrometástasis, un 25% micrometástasis y un 12% CTA. Otros autores, reflejan porcentajes de micrometástasis superiores, aunque siempre menores al nuestro. Así, en un ensayo aleatorizado publicado por *Giuliano et al.* (169), aún cuando se realizó estudio con H&E únicamente, el

porcentaje de micrometástasis fue del 37,5% en el grupo sometido a LA y del 44,8% en el grupo sometido a BSGC.

*Van Rijk et al.* (209) manifiestan que en la práctica diaria aproximadamente el 30% de pacientes tendrá un GC positivo y que, de ellas, un 23% serán micrometástasis.

El estudio del GC permite un diagnóstico mucho más minucioso y exhaustivo que el de la que, generalmente, incluye el estudio de una sola sección. En el Instituto John Wayne Cancer se demostró un incremento en la tasa de detección de metástasis del 13% (210) al comparar su tasa de detección (realizada sobre GC) con series de pacientes con características tumorales similares sobre las que se había realizado LA. Comprobaron de esta forma que el examen de volúmenes tisulares mucho mayores disminuía la eficacia en la detección de metástasis (211). Un análisis más minucioso conlleva el aumento de detección de metástasis en GC (principalmente micrometástasis). Esto queda demostrado en una investigación a partir de la base de datos SEER (212) y otra a partir de la base de datos nacional danesa (213). En esta última, la proporción de macrometástasis no fue diferente antes y después de la introducción de BSGC, mientras que aumentó significativamente el porcentaje de micrometástasis del 5,1 a 9%.

La detección de micrometástasis también se correlaciona con la técnica utilizada para el estudio del GC, de tal forma que la realización de IHQ para la demostración de marcadores epiteliales (generalmente citoqueratinas) se traduce en una tasa creciente de identificación de micrometástasis (214). La IHQ aumenta la tasa de detección del 9% al 47% en comparación con la H&E (207).

- En el estudio ACOSOG Z0010 diseñado para evaluar la incidencia y el impacto de las micrometástasis en el GC y en la supervivencia de las pacientes, se observó que en el 10,5% de los casos en los que el estudio del GC con H&E fue negativo, resultó positivo para IHQ, pero no tuvo impacto en la SG (107).

- En el estudio NSABP B32 el porcentaje de metástasis ocultas hallado mediante IHQ fue del 15,9%, siendo la SG a los 5 años en estas pacientes del 94,6% frente al 95,8% en las que el resultado fue negativo, considerándose que esta pequeña diferencia no sustenta el uso rutinario de IHQ (2).

El método OSNA, como supone el estudio total del GC, es de esperar que aumente la tasa de detección de micrometástasis en el GC respecto al estudio histológico convencional. En estudios que comparan el OSNA frente a la impronta citológica, *Castellano et al.* (172) obtuvieron un 18% de micrometástasis frente a 8%, un estudio multicéntrico (215) un 52% frente a un 25%, y *Santaballa et al.* (216) obtuvieron un 11% de micrometástasis mediante OSNA frente a un 3,6% con el estudio histológico convencional. En un estudio que compara el OSNA frente al estudio por congelación hallaron un 8,7% vs. 4,5% de micrometástasis respectivamente. *Cserni et al.* (148) igualmente han publicado tasas de detección de micrometástasis mediante método OSNA más elevadas que las detectadas mediante estudios convencionales histopatológicos. Este hecho es el que probablemente explica la incidencia más elevada de micrometástasis en nuestra serie.

Podemos concluir que la técnica OSNA es superior, o al menos equivalente, a los métodos histológicos en la detección de micrometástasis. En nuestro estudio se observa una tasa de detección de micrometástasis del 18% y de CTA del 5%, lo cual concuerda con los diferentes estudios publicados que concluyen que el análisis del GC mediante la técnica OSNA aporta un aumento en la tasa de detección de bajos volúmenes tumorales (micrometástasis y CTA) en comparación con el estudio del GC mediante técnicas histológicas convencionales.

## 4. AFECTACIÓN METASTÁSICA DE LOS GNC:

En las pacientes con GC negativo, es claro, sobre la base de los resultados de 69 estudios observacionales (203) y 5 ensayos aleatorios (3) (132) (136) (183) (217), que no se requiere completar LA. Aunque el GC sea falsamente negativo en aproximadamente el 5% de pacientes, la recurrencia axilar es poco frecuente (0,3% (218)) y la supervivencia a largo plazo no se ve afectada (134) (219).

Sin embargo, en la última década se han producido cambios radicales en el manejo del CM con GC positivo. El algoritmo está evolucionando desde la realización de una LA completa, la cual se considera la atención estándar todavía en muchos centros, a un enfoque mucho más selectivo. Esto se debe a cuatro argumentos de peso:

1. La generalización de los programas de cribado permite la identificación de la enfermedad en un estado temprano en un mayor porcentaje.
2. La mejor comprensión de la biología tumoral, el estado ganglionar y el número de ganglios linfáticos involucrados ya no son los únicos determinantes de la terapia sistémica, y los planes de tratamiento se realizan más a menudo sobre la base de la biología tumoral, siendo el papel de la realización de LA menos crítico (220).
3. La constatación de que, en un porcentaje importante de casos, el GC es el único metastásico una vez realizada la LA.
4. Los diferentes estudios publicados muestran que las tasas de recidivas locorregionales son más bajas de lo esperado, lo cual hace que se empiece a cuestionar el beneficio de completar una LA aún cuando el resultado del GC fuera positivo para macrometástasis, al menos en grupos de pacientes con características tumorales más favorables (221) (222) (223).

Existen dos formas de enfocar este escenario clínico:

- Demostrar que, al menos en determinados casos, no importa que quede enfermedad en los GNC pues no repercute ni en la SG.
- Desarrollar sistemas de predicción de la no afectación de los GNC, para evitar así las LA innecesarias.

### **La presencia de enfermedad en GNC no cambia el pronóstico**

Recientes trabajos han venido a reforzar la idea ya apuntada en el ensayo NSABP B04, de que, al menos en determinadas circunstancias, la persistencia de enfermedad metastásica en los GNC no cambia el pronóstico de las pacientes.

#### **ACOSOG Z0011**

El estudio Z0011 del ACOSOG (163) es sin duda el principal representante de este enfoque en el que junto con otros, como el IBCSG 23-01, ha supuesto un reto en la nueva forma de enfrentarse a la enfermedad axilar, no sólo por parte de los cirujanos, sino de todo el mundo oncológico.

Se trata de un ensayo de asignación aleatoria (LA/observación), que incluye 813 pacientes, en el que sus autores, *Giuliano et al.* (163), demuestran una baja tasa de recurrencia locoregional en el grupo de pacientes con estadio precoz de CM (T1-2, con uno o dos GC positivos- macro/micrometástasis), tratadas con cirugía conservadora en la que se obtuvo márgenes libres, radioterapia en la mama, y terapia sistémica adyuvante, a las que no se realizó LA. Se consideraron criterios de exclusión pacientes con ganglios palpables, los tumores cT3, así como las pacientes con  $\geq 3$  GC positivos.

La mayoría de las mujeres en este estudio eran mayores de 50 años (64%), tenían tumores cT1 (68%), RE-positivos (77%), sólo tenían 1 GC positivo (60%) y recibieron tratamiento sistémico (96%: 58% QT adyuvante y 46% HT adyuvante). Tenían micrometástasis o CTA el 40% de las pacientes. Se encontraron GNC positivos en el 27,3% de las que recibieron LA. Este estudio excluyó a pacientes tratadas mediante mastectomía o con QT neoadyuvante. En 6,3 años de



seguimiento no se encontraron diferencias entre los 2 grupos en las tasas de recurrencia axilar (0,5% frente a 0,9%), recurrencia en la mama (0,6% frente a 1,9%), o recidiva locorregional global (4,1% vs. 2,8%;  $p=0,53$ ) (184). La SLE y SG fue similar (82,2% vs. 83,8% y 91,9% vs. 92,5%) entre los dos grupos (169) y por tanto concluye que no es necesario completar la LA en este grupo de pacientes.

Se han planteado diversas limitaciones a este estudio:

- En primer lugar, se trata de un estudio de no inferioridad, pero el margen de no inferioridad permitido no está claro.
- El objetivo de población a reclutar era, en principio, 1.900 pacientes. El ensayo se cerró prematuramente dada la baja tasa de reclutamiento y la baja tasa de eventos, con 436 pacientes en el grupo de GC y 420 pacientes en el grupo de GC más LA. El ensayo no tiene por tanto la potencia significativa para alcanzar los objetivos de supervivencia estadísticos predeterminados.
- A 11 pacientes pertenecientes al grupo en el que solamente se debía realizar GC se les realizó, sin embargo, LA; mientras que a 32 pacientes del grupo GC y LA se les practicó solamente GC.
- El porcentaje de pacientes perdidos en el seguimiento en la rama de LA fue del 21% (92 pacientes) y del 17% (74 pacientes) en la de BSGC. Cuando en un estudio el porcentaje de pérdidas es superior al 10% las conclusiones pueden estar sesgadas (224).
- La mayoría de tumores son T1 (al menos el 70%) con receptores hormonales positivos (el 85%), los cuales de forma característica tienen una baja tasa de recurrencia.
- Los ganglios eran negativos en el 7% de las pacientes pertenecientes al grupo GC versus el 1% de las pacientes pertenecientes al grupo GC y LA.

- El 40% de los pacientes tenía sólo micrometástasis en el GC, haciendo hincapié en la enfermedad axilar de bajo volumen que se incluyó en este estudio.
- En ninguno de los dos grupos se especifica el número de pacientes con micrometástasis y con macrometástasis.
- Es probable que algunos de los ganglios linfáticos axilares de niveles axilares bajos fueran cubiertos por los campos de radiación y, por lo tanto, recibieran tratamiento.

Sin embargo, al observar las características clínicas y anatomopatológicas de nuestra serie de casos, podemos comprobar cómo es una población semejante a la descrita por Giuliano en su ensayo, ya que es la población a la que se le realiza BSGC en la clínica habitual. En la mayor parte de los casos se corresponden con situaciones *a priori* de pronóstico favorable. Así, en nuestra población vemos que la edad media de presentación son 58 años, siendo el 68,3% de los casos mujeres en estado menopáusico. En el 72,4% se trataba de carcinoma unifocal, con una mediana de tamaño clínico de 19 mm y anatomopatológico de 12 mm. El grado tumoral fue G1-G2 en el 68,7% de los casos. La expresión de receptores hormonales fue positiva en el 83,6% de los casos, la expresión de Ki67 fue baja en el 65,7% y el oncogén Her2 fue negativo en el 92,2% de los casos. Solamente se detectó presencia de ILV en el 17,6%. El 78,42% de los casos correspondieron a un estadio pT1.

A pesar de las numerosas críticas existentes, y del gran debate que ha planteado en la literatura sobre su validez metodológica para apoyar el abandono de la LA en pacientes con GC afecto, en la clínica diaria se puede decir que está cambiando la práctica quirúrgica actual (225) (226) (227) (228): la Sociedad Americana de Cirujanos de la Mama (*American Society of Breast Surgeons*) (229) así como las guías prácticas de ASCO (82) y de NCCN (nivel 1 de recomendación) (40) incorporan sus conclusiones.

## AMAROS

El ensayo EORTC 10981-22023 AMAROS (109) tiene como objetivo demostrar que, en el caso de encontrarnos ante un resultado de GC positivo, la RT axilar ofrece las mismas ventajas que la realización de LA en cuanto a SLE y SG, aportando además una menor morbilidad.

Se trata de un ensayo multicéntrico de fase III, de randomización aleatoria 1:1 en el que las pacientes son asignadas aleatoriamente a recibir LA o RT. Se consideró como objetivo primario de no-inferioridad que la recurrencia axilar a los 5 años tras RT no fuera mayor del 4% (en comparación con el 2% esperado en el grupo de realización de LA). Se realizaron análisis por intención de tratar y por protocolo.

En este ensayo se incluyen 4.806 pacientes con un episodio primario de CM en estadio T1-T2 sin afectación clínica ganglionar, procedentes de 34 centros de 9 países europeos. De ellos, 2.402 pacientes fueron asignados aleatoriamente a recibir RT axilar y 2.404 pacientes a realización de LA. Así, de los 1.425 pacientes con resultado de BSGC positiva, se completó LA en 744 pacientes mientras que 681 recibieron RT axilar. Este grupo de pacientes constituye la población “intención de tratar”. La media de seguimiento en los pacientes con resultado de GC positivo fue de 6,1 años (4,1-8,0). En el grupo de realización de LA, el 33% (220/672) de los pacientes tenían GNC afectos. Se produjo recidiva ganglionar en 4/744 pacientes del grupo de LA y en 7/681 del grupo de RT axilar. La recurrencia axilar a 5 años fue de 0,43% (IC 95% 0,00-0,92) tras LA vs. 1,19% (0,31-2,18) tras RT axilar. El test esperado de no-inferioridad perdió potencia estadística dado el escaso número de eventos. Sin embargo, el IC 95% unilateral para este test de no-inferioridad tuvo un cociente de riesgo de 0,00-5,27 con una margen de no-inferioridad de 2.

Por otra parte, el linfedema en el brazo ipsilateral fue significativamente más frecuente tras realización de LA que tras RT, tras 1 año de seguimiento, tras 3 años, y tras 5 años.

Estos resultados se interpretan de la siguiente manera:

- tanto la LA como la RT axilar tras un resultado de GC positivo aportan un excelente y similar control en la población estudiada (paciente con episodio primario de CM en estadio clínico T1-T2 N0 M0).
- las pacientes a las que se administró RT axilar tienen una morbilidad significativamente menor en comparación al grupo en el que se completó la LA.

### Otros

En una reciente revisión sistemática (161) se halló que entre las pacientes con CM sin ganglios linfáticos palpables, la LA no proporciona beneficio en la supervivencia en comparación con la BSGC, pero reduce el riesgo de recurrencia de las metástasis axilares en un 1-3%. Sin embargo, la LA está asociada a un 14% de riesgo de linfedema en comparación con menos del 5% en pacientes sometidas a BSGC. Concluyen que la evidencia disponible sugiere que la LA se asocia con más daño que beneficio en mujeres sometidas a terapia conservadora de la mama que no tienen ganglios linfáticos sospechosos palpables, que tienen tumores de 3 cm o más pequeños, y que tienen 3 o menos ganglios positivos en la BSGC (161).

### Predicción de la no afectación de GNC

Si bien poco a poco se va imponiendo la idea de que dejar enfermedad en la axila sin extirpar quirúrgicamente es asumible, lo cierto es que todavía encuentra resistencias por parte de algunos autores. Estos no tendrían objeción alguna a no realizar LA en los casos en los que no haya más enfermedad en los GNC. Por ello el esfuerzo por encontrar una fórmula de predicción de los casos sin afectación en los GNC se ha realizado de forma casi paralela al desarrollo de la técnica de la BSGC. Casi todas las aproximaciones al problema están desarrolladas en torno a la intensidad de afectación del GC, primero cualitativa y más recientemente cuantitativa

## Micrometástasis

Diferentes estudios publicados en los últimos años aportan datos de que, en caso de afectación metastásica del GC por micrometástasis, la mayor parte de las pacientes no tienen más ganglios axilares afectos.

- hasta el 80-85% de las pacientes según el documento publicado por *Sicart et al.* (1)
- el 85-90% de las pacientes, dependiendo del método de estudio del GC, en el meta-análisis realizado por *Cserni et al.* (214)
- el 80%, en el trabajo de *Kumar et al.* (159)
- el 87%, dato reportado en tres estudios multicéntricos, dos de ellos aleatorizados (164) (207) (230).

En el periodo inicial de nuestro estudio aún no se había instaurado el protocolo de no realización de LA en caso de GC positivo para micrometástasis, por lo que se completó LA en 28 casos que tenían afectación micrometastásica del GC. Nuestros datos son concordantes con los aportados en la literatura puesto que, cuando la BSGC resultó positiva para micrometástasis, en los casos en los que se realizó LA, el porcentaje de GNC positivos fue del 14,3%. Además, el número de GNC afecto por metástasis fue de tan sólo 1 ganglio adicional en todos estos casos.

También respecto a las micrometástasis en el GC, un estudio multicéntrico español (230) concluyó que la BSGC fue suficiente para el control locorregional y de la enfermedad distante, sin ningún efecto significativo sobre la supervivencia. En éste, el GC se estudió mediante H&E y mediante IHQ. Respecto al tratamiento sistémico en el grupo experimental (observación), recibieron QT el 36,8%, QT más HT el 57% y solamente HT un 6,2% mientras que en el brazo control (LA), estos porcentajes fueron de 40,2%, 50% y 9,8% respectivamente.

En la Conferencia de Consenso de St. Gallen de 2011 (231) se había avanzado en esa dirección ya que se recomendaba que el hallazgo de micrometástasis en un sólo GC no debía ser una indicación para la realización de LA, independientemente del tipo de cirugía de mama que se hubiese realizado y actualmente en el documento de Consenso sobre la BSGC en el CM, revisión 2013, de la SESPM (87) presentado en el I Congreso Español de Mama, el diagnóstico de micrometástasis no se considera indicación de LA.

Se debe hacer notar que actualmente se desconoce si el significado pronóstico de las micrometástasis o CTA en el GC varía de acuerdo a cada subtipo de CM (232).

*Yegiyants et al.* (166) concluyeron en un estudio prospectivo de 55 pacientes que cuando el GC presentó micrometástasis se produjo una baja incidencia de recidiva regional. Ni *Pernas et al.* (233) en 45 pacientes con una mediana de seguimiento de 60 meses ni *Hwang et al.* (234) en 196 pacientes con una mediana de 29,5 meses observaron ninguna recidiva axilar, mientras que *Naik et al.* (235) hallaron un 1,4%.

Recientemente se han publicado los hallazgos del estudio IBCSG 23-01. Se trata de un estudio multicéntrico fase 3 de no inferioridad en pacientes con tumores hasta 5 cm y ganglios axilares clínicamente negativos que tuvieron una o más micrometástasis en el GC examinada mediante H&E, sin extensión extracapsular y que fueron aleatoriamente asignadas a disección axilar o no. En el brazo de disección axilar recibieron terapia sistémica el 95% de los casos (hormonal 63%, QT 9%, ambas 23%) mientras que en el brazo de no disección axilar lo recibieron el 97% (67% HT, 7% QT, 22% ambas). La SLE a los 5 años fue del 87,8% (CI95%: 84,4-91,2) en el grupo sin LA y 84,4% (CI95%:80,7-88,1) en el grupo en el que se completó la LA. Concluyeron que se puede evitar la realización de una LA eliminando las complicaciones de la cirugía axilar sin efecto adverso en la supervivencia.

Por ello está ampliamente aceptado que la realización de LA en caso de micrometástasis en GC no es necesaria (236).

### Macrometástasis

El porcentaje de pacientes con algún GNC afecto cuando el GC es positivo para macrometástasis oscila, según los estudios históricos publicados, entre el 48% y el 87%, por lo que la práctica habitual ha consistido en completar la LA como forma de control loco-regional (237) (238) (239).

En nuestra serie, la tasa de afectación de GNC, tras GC positivo para macrometástasis, se sitúa en cifras más bajas (31,9%), de forma similar a las publicaciones más recientes de centros grandes, en las que oscila entre 25-41% (108). Ello quiere decir que, hoy en día, en 2 de cada 3 pacientes con GC positivo la linfadenectomía no aporta nada más que morbilidad. Por ello se entiende que múltiples centros hayan tratado de desarrollar herramientas que permitan estimar las probabilidad de afectación de los GNC en estas pacientes, con el fin de poder omitir la LA en los casos considerados de bajo riesgo (199).

Así, a partir del año 2002 comienzan a publicarse trabajos en la búsqueda de dichos factores predictivos. Entre ellos se incluyen nomogramas (MSKCC (154), Mayo (240), Cambridge (241), Standford (242), *Katz et al.* (243), *Meretoja et al.* (244) (245)), 3 sistemas de puntuación o *scoring systems* (Tenon (246), MA Anderson (247), *Saidi et al.* (248)) y 2 modelos de división recursiva o *recursive partitioning* (*Kohrt et al.* (242)).

A través de estos métodos se intenta establecer cuantitativamente la probabilidad de metástasis en los GNC, tomando en cuenta factores que, en diferente orden y porcentaje, se van a repetir en la mayoría de estudios publicados. El más frecuente, el tamaño de las metástasis en el GC, después el tamaño del tumor primario, la presencia de ILV, la extensión extracapsular, el número de GC positivos y la proporción entre el número de GC positivos y GC extirpados, entre otros.

Un metanálisis reciente (249) que realizó una revisión sistemática de 6 modelos predictivos (MSKCC, Cambridge, Stanford, Tenon, Mayo y MD Anderson) expone que, en general, todos los modelos fueron superiores al azar, aunque el AUC medio de cada uno de los modelos fue menor a 0,75, por tanto con regular capacidad discriminatoria diagnóstica.

En general, el nomograma MSKCC y el sistema de puntuación de Tenon superan a otros métodos para todos los pacientes, incluyendo el subgrupo de pacientes con solo micrometástasis o CTA. El de Cambridge también muestra una buena capacidad predictiva (250). Sin embargo, muchos pierden su aplicabilidad cuando son usados fuera de la institución de origen y adicionalmente tienen como desventaja el no incorporar elementos como el status Her2 o subtipos moleculares, los cuales cobran cada vez más importancia a la hora de la toma de decisiones terapéuticas en la práctica médica actual. Estos métodos pueden ser herramientas útiles de ayuda en la toma de decisiones en los diferentes grupos de trabajo, sumados a otros factores, y no como únicos elementos para seleccionar pacientes para indicar o no LA.

### Nomograma del MSKCC

El nomograma MSKCC publicado por la *Dra. Van Zee et al.* (154) es el que más se ha difundido en la práctica clínica y más ha sido validado por otros grupos (251) (252) (253). Fue desarrollado a partir de los datos de 700 pacientes y validado con otros casi cuatrocientos más. La probabilidad de afectación de GNC se obtiene a partir de ocho parámetros.

Con resultados parecidos a todos los hasta entonces publicados y a los que después aparecerán, quizás lo más interesante es que, a diferencia de la mayoría de ellos, entre sus variables no considera el tamaño de afectación metastásica ganglionar, cuando éste ha sido el factor que más frecuentemente se ha identificado como predictivo de afectación metastásica de GNC en la literatura.



## Carga Tumoral

El volumen tumoral de las metástasis en el GC afecto, con los procedimientos histopatológicos convencionales empleados para su evaluación, está sujeto a una gran variabilidad interobservador ya que generalmente se basan en el análisis de una porción del ganglio.

El método OSNA, y los datos de CTT que puede aportar tras el análisis del GC en su totalidad, constituye una nueva herramienta capaz *per se* de predecir la probabilidad de afectación metastásica de GNC.

Tsujimoto et al. (4) establecieron que una carga tumoral superior a 5.000 copias es equivalente al concepto clásico de macrometástasis. Por ello por debajo de esta cifra se acepta no completar LA en coherencia con los criterios aceptados para las micrometástasis.

En 2012 *Ohi et al.* publicaron un trabajo (254) en el que mostraba cómo el número de copias de ARNm de CK19 en el GC medido mediante el método OSNA es un método sensible, específico y reproducible para predecir metástasis en GNC. Concretamente, sobre una población de 742 pacientes con CM con indicación de realización de BSGC (excluyendo carcinomas intraductales y carcinomas susceptibles de QT neoadyuvante) en la cual se realizaron 130 LA por resultado de BSGC positivo, obtienen un resultado de GNC positivos del 19,3% (11/57) en el caso de que el GC fuera positivo para micrometástasis y de 53,4% (39/73) en el caso de que el GC fuera positivo para macrometástasis. Confirman el punto de corte de carga tumoral mayor o igual a 5.000 copias de ARNm de CK19 fijado por *Tsujimoto* como el factor predictor de metástasis en GNC más significativo. Además, observan que un número de copias mayor o igual a 100.000 es el único factor predictivo independiente de encontrar más de 3 GNC afectados.

Desde entonces, ha sido varios los autores que han demostrado la relación entre el número de copias de ARNm de CK19 en el GC y el hallazgo de metástasis en GNC (174) (175) (176) (255) (256) (257) (258) (259) (260) (261).

Recientemente, autores españoles del Hospital Vall D'Hebrón, *Espinosa Bravo* (176), Rubio (260), y *Peg et al.* (175) definen el concepto de CTT como el sumatorio del número de copias de ARNm de CK19 de cada uno de los GC analizados mediante OSNA, y comunican que se debe considerar como un nuevo parámetro capaz de predecir por sí mismo la probabilidad de más metástasis axilares. Así la probabilidad de axila no afectada (libre de metástasis) es de un 85% cuando la CTT es inferior a 15.000 copias/ $\mu$ L. Esta probabilidad puede disminuirse estableciendo como punto de corte un valor inferior. Sus resultados han sido recogidos en el documento de Consenso 2013 sobre la BSGC en el CM de la SESPM.

Dejan abierto a las consideraciones de los distintos Comités de Mama la conducta a seguir en función de la CTT, que puede ser matizable en función de los factores de riesgo dependientes del tumor primario, si bien para ellos es independiente del número de GC y no se correlaciona con el tipo de cirugía o con el subtipo histológico del tumor.

Al ser un factor predictivo independiente, como mínimo esta herramienta puede ser útil a la hora de tomar decisiones en pacientes que no cumplen completamente los criterios del estudio Z0011, o para aquellos grupos que han estado poco representados. Si bien su valor predictivo es inferior al de otros nomogramas publicados, su fortaleza está en que se basa en una técnica intraoperatoria estandarizada, sencilla, reproducible, y muy precisa, que estudia el GC en su totalidad.

El punto de corte seleccionado en nuestro estudio, se basa igualmente en la predicción de afectación metastásica en GNC. Así, al analizar nuestra serie de casos, observamos que, si consideramos únicamente el parámetro predictivo "CTT", este punto de corte de CTT puede verse incrementado con seguridad desde las 5.000 que definen las macrometástasis hasta **5.888** copias/ $\mu$ L, de tal forma que el 85,7% de los casos con menos de este número de copias en el GC, no tendrán metástasis adicionales en el resto de ganglios axilares, con un VPN= 0,857 (IC95% 0,727-0,987).

Por otra parte, intentamos identificar otros factores pronósticos o predictivos que pudieran tener impacto en la probabilidad de afectación ganglionar, y vimos que, en la cohorte de casos que presentaban un grado histológico tumoral G1-G2 (casos biológicamente más favorables) se observó un incremento en el punto de corte de CTT de tal forma que, cuando ésta es  $< 7.762$  copias/ $\mu\text{L}$ , el 94,7% de los pacientes no tendrían metástasis adicionales en los GNC, con un VPN= 0,95 (IC 95% 0,85-1,00). Al realizar el mismo análisis con la cohorte de casos G3 no se encontró significación estadística e, incluso, se sugirió un mejor pronóstico en los tumores G3, lo cual es biológicamente incongruente. Esto se debe al escaso tamaño muestral del estudio (tan sólo 34 casos con GNC positivos, de los cuales únicamente 3 casos pertenecieron al grupo G3). Al igual que para *Peg et al.* (175) considerar el número de GC positivos tampoco se muestra en nuestro estudio como un parámetro predictivo de GNC afecto estadísticamente significativo.

Existen dos estudios publicados, uno italiano y otro alemán que aportan un punto de corte de CTT similar al nuestro:

- *Deambrogio et al.* (174) obtienen el valor de **7.700** copias/ $\mu\text{L}$  en una curva ROC con un AUC= 0,69, una sensibilidad del 78%, una especificidad del 57%, un VPP= 50% y un VPN= 83% y concluye que, por debajo de este valor de número de copias se puede omitir con seguridad la realización de LA.
- *Heilmann et al.* (258) en un estudio similar concluye que una CTT superior a **7.900** copias/ $\mu\text{L}$  es indicación de realización de la LA, ya que se asocia a hallazgo de GNC positivos con una sensibilidad del 91% y una especificidad del 61%.

En la Tabla 7 se recoge un resumen de los diferentes estudios publicados en la literatura mundial que analizan el papel predictivo de la CTT para la detección de metástasis en GNC:

TABLA 7. Estudios que analizan el papel predictivo de la CTT para la detección de metástasis en GNC.

ESTUDIO	CONCLUSIONES
<b>Y Ohi, et al. (254)</b> (Japón, Agosto 2012)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt; <b>5.000</b> vs. <math>\geq</math> 5.000 copias/<math>\mu</math>L tiene OR (95% IC)= 3,757 (1,569-8,997); p= 0,003.</li> <li>• &lt; 100.000 vs. <math>\geq</math> 100.000 copias/<math>\mu</math>L tiene OR (95% IC)= 3,662 (1,301-10,305); p= 0,014 para predicción pN2.</li> </ul>
<b>S Buglioni, et al. (256)</b> (Italia, Marzo 2013)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt; <b>5.000</b> vs. <math>\geq</math> 5.000 copias/<math>\mu</math>L tiene OR (95% IC)= 4,76 (2,47-9,19); p&lt; 0,0001.</li> <li>• Se puede omitir LA si &lt; 2.000 copias/<math>\mu</math>L y fenotipo luminal.</li> </ul>
<b>M Espinosa-Bravo, et al. (176)</b> (España, Marzo 2013)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt; <b>120.000</b> copias/<math>\mu</math>L tiene VPN= 80% y E= 85,5%.</li> <li>• &lt; <b>500.000</b> copias/<math>\mu</math>L en CM con receptores hormonales positivos tiene VPN= 83,7% y E= 86,7%.</li> </ul>
<b>V Peg, et al. (175)</b> (España, Abril 2013)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt; <b>15.000</b> copias/<math>\mu</math>L tiene VPN= 85,5% (IC 95% 81,0-88,8); VPP= 41,1% (IC 95% 36,3-46,1); S= 76,7 (IC 95% 70,4-82,0) y E= 55,2 (IC 95% 50,7-59,5).</li> </ul>
<b>SM Banerjee, et al. (257)</b> (Reino Unido, Agosto 2013)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt; <b>1.400</b> copias/<math>\mu</math>L no se asocia con GNC positivos.</li> </ul>
<b>T Heilmann, et al. (258)</b> (Alemania, Octubre 2013)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt; <b>7.900</b> copias/<math>\mu</math>L tiene S= 91% y E= 61%.</li> </ul>
<b>A Teramoto, et al. (259)</b> (Japón, Mayo 2014)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Integra CTT &lt; o <math>\geq</math> <b>5.000</b> copias/<math>\mu</math>L en nomograma junto con tamaño clínico tumoral y número GC positivos. Curva ROC con AUC= 0,704 para la cohorte de validación.</li> </ul>
<b>C Deambrogio, et al. (174)</b> (Italia, Junio 2014)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <math>\leq</math> <b>7.700</b> copias/<math>\mu</math>L tiene curva ROC con AUC= 0,69; S= 78%; E= 57%; VPP= 50% y VPN= 83%.</li> </ul>

<b>IT Rubio, et al. (260)</b> (España, Agosto 2014)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Integra CTT en nomograma junto con tamaño tumoral, número GC positivos, expresión Her2 e ILV. Curva ROC con una AUC= 0,678 para la cohorte de validación.</li> </ul>
<b>M Espinosa-Bravo, et al. (261)</b> (España, Diciembre 2014)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt; <b>15.000</b> copias/μL tiene VPN= 85,5% y S= 76,7%.</li> </ul>
<b>L Paz.</b> (España, Diciembre 2015)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt; <b>5.888</b> copias/μL tiene curva ROC con AUC= 0,624; S= 88%; E= 29%; VPP= 33% y VPN= 86%.</li> <li>• &lt; <b>7.762</b> copias/μL en CM G1-G2 tiene curva ROC con AUC= 0,705; S= 88%; E= 29%; VPP= 33% y VPN= 86%.</li> </ul>

Todavía no existen datos en la literatura sobre la importancia clínica de la CTT por lo que aún no existe un consenso definitivo a día de hoy sobre este tema, dado que no hay un periodo suficiente de seguimiento a largo plazo de los pacientes y por lo tanto desconocemos datos de SG, SLE o de recurrencia locorregional.

Junto a esta limitación común, nuestro estudio además tiene otras consecuencias de ser un trabajo retrospectivo no aleatorizado y de un único centro, en el cual el número de casos de pacientes con metástasis adicionales en los GNC es bastante limitado (n=34) lo que, consecuentemente, impide alcanzar la significación estadística a otras variables relacionadas con la presencia de metástasis en GNC.

A pesar de todo, este trabajo aporta una descripción detallada de la población de pacientes del Hospital Universitario La Paz a las que se les realiza BSGC, y sin duda contribuye a mostrar que la CTT del GC medida mediante OSNA es una herramienta útil para ayudar al clínico a decidir si realizar una LA o no en aquellos pacientes en los que los riesgos y beneficios de realizar una LA no están claros.

## 5. LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN ABIERTAS

La aparición de trabajos que apoyan la posibilidad de evitar la LA, incluso con afectación macrometastásica, hacen preceptivo plantear estudios para definir, de una forma precisa, los criterios que permitan seleccionar a los pacientes que se beneficiarían de este manejo más conservador sin empeorar el pronóstico de su enfermedad a largo plazo.

Por tanto, un aspecto que debería ser más estudiado es la repercusión que tiene la cantidad de enfermedad axilar en la evolución. En la actualidad, es posible determinar de una forma cuantitativa y con alta sensibilidad la enfermedad axilar en el GC mediante el método OSNA y, muy probablemente, el estudio de la CTT puede ayudar, por un lado, a saber realmente la importancia pronóstica de esta variable de una forma objetiva, así como a conocer la probabilidad de afectación en otros ganglios y, por tanto, aquilatar de forma más precisa los casos en los que podría evitarse la LA.

Es necesario, por tanto, diseñar nuevos estudios con el fin de conocer si en las pacientes con CM, ante uno o más GC positivos en la BSGC:

- la CTT del GC es una herramienta segura, en términos de recurrencia locorregional y SG, a la hora de tomar la decisión de completar o no la LA.
- Existen otras variables que puedan mejorar los resultados predictivos de no afectación en GNC.

# CONCLUSIONES





## CONCLUSIONES

1. La técnica molecular OSNA aumenta significativamente la tasa de detección de bajos volúmenes tumorales (micrometástasis y CTA) en comparación con el estudio del GC mediante técnicas histológicas convencionales.
2. El dato de CTT que aporta el método OSNA durante el estudio intraoperatorio del GC en pacientes con CM es de utilidad en la práctica clínica, pues permite tomar una decisión intraoperatoria respecto a la necesidad, o no, de completar una LA.
3. La CTT constituye un factor predictivo independiente de presencia de metástasis adicionales en GNC.
4. La CTT tiene una capacidad predictiva de metástasis en GNC mayor que el número de GC positivos.
5. El punto de corte propuesto de 7.762 copias de ARNm-CK19/  $\mu$ L en carcinomas mamarios de grados G1 y G2, y de 5.888 en el conjunto de los CM, puede representar una herramienta útil en la selección de pacientes en los cuales la LA podría estar recomendada dado el riesgo de tener metástasis adicionales en GNC.



# BIBLIOGRAFÍA



## BIBLIOGRAFÍA

1. **Vidal Sicart S, Bernet Vegué L, Giménez Climent MJ.** Manual de Práctica Clínica en Senología. Sociedad Española de Senología y Patología Mamaria, 2ª edición 2012.
2. **Krag D, Anderson SJ, Julian TB, et al.** Sentinel-lymph-node resection compared with conventional axillary-lymph-node dissection in clinically node-negative patients with breast cancer: overall survival findings from NSABP B-32 randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2010;11:927-33.
3. **Veronesi U, Paganelli G, Viale G, et al.** A randomized comparison of sentinel-node biopsy with routine axillary dissection in breast cancer. *N Engl J Med* 2003;349:546-53.
4. **Tsujimoto M, Nakabayashi K, Yoshidome K, et al.** One-Step Nucleic Acid Amplification for Intraoperative Detection of Lymph Node Metastasis in Breast Cancer Patients. *Clin Cancer Res* 2007;13:4807-16.
5. **International Agency for Research on Cancer (IARC) and World Health Organization (WHO).** GLOBOCAN 2012: Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012. [http://globocan.iarc.fr/Pages/fact\\_sheets\\_cancer.aspx](http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx), 2014.
6. **Coleman MP, Gatta G, Verdecchia A, et al.** EURO CARE-3 summary: cancer survival in Europe at the end of the 20th century. *Ann Oncol* 2003;14(Suppl 5):v128–142.
7. **Pollán M, Ramis R, Aragonés N, et al.** Municipal distribution of breast cancer mortality among women in Spain. *BMC Cancer* 2007;7:78-82.

8. **Gil F, Méndez I, Sirgo A, et al.** Perception of breast cancer risk and surveillance behaviours of women with family history of breast cancer: a brief report on a Spanish cohort. *Psycho-oncology* 2003;8; 821-27.
9. **Lynch HT, Watson P, Conway T.** Breast cancer family history as a risk factor for early onset breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1988;11:263-67.
10. **Kvale G, Heuch I.** Menstrual factors and breast cancer risk. *Cancer* 1988;62:1625-31.
11. **Bruzzi P, Negri E, La Vecchia C.** Short term increase in risk of breast cancer after full term pregnancy. *Br Med J* 1988;297:1096-98.
12. **Leon DA.** A prospective study of the independent effects of parity and age at first birth on breast cancer incidence in England and Wales. *Int J Cancer* 1989;43:986-91.
13. **Kalache A, Maguire A, Thompson WS.** Age at last full term pregnancy and risk of breast cancer. *Lancet* 1993;341:32-5.
14. **Lambe M, Hsieh C, Trichopoulos D.** Transient increase of the risk of breast cancer after giving birth. *N Engl J Med* 1994;331:5-9.
15. **Espié M, Tournant B, Cuvier C, Cottu PH.** Epidemiología de las lesiones malignas de la mama. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale, Ginecología y Obstetricia* 2002;38:1-12.
16. **Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer.** Breast cancer and hormonal replacement therapy: collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52.705 women with breast cancer and 108.411 women without breast cancer. *Lancet* 1997;350:1047-60.
17. **Longnecker M, Newcomb P.** Risk of breast cancer in relation to lifetime alcohol consumption. *J Natl Cancer Inst* 1995;87:923-29.

18. **Smith-Warner SA, Spiegelman D, Shiao-Shyuan Y, et al.** Alcohol and breast cancer in women. A pooled analysis of cohort studies. *JAMA* 1988;279:535-40.
19. **Palmer JR, Rosenberg L, Clarke EA, et al.** Breast cancer and cigarette smoking: a hypothesis. *Am J Epidemiol* 1991;134:1-13.
20. **Band P, Le ND, Fang R, Deschamps M.** Carcinogenic and endocrine disrupting effects of cigarette smoke and risk of breast cancer. *Lancet* 2002;360:1044-50.
21. **Carter CL, Corle DK, Micozzi MS, et al.** A prospective study of the development of breast cancer in 16,692 women with benign breast disease. *Am J Epidemiol* 1998;128:467-77.
22. **Bernstein JL, Thompson WD, Risch N, et al.** Risk of developing second primary breast cancer among survivors of breast cancer. *Cancer Res* 2012;72:43-49.
23. **Paget S.** The distribution of secondary growths in cancer of the breast. *Cancer Metastasis Rev* 1989;8:98-101.
24. **Kennecke H, Yerushalmi R, Woods R, et al.** Metastatic behaviour of Breast Cancer Subtypes. *J Clin Oncol* 2010;28:3271-77.
25. **Hackshaw AK, Paul EA.** Breast self-examination and death from breast cancer: a meta-analysis. *Br J Cancer* 2003;88:1047-53.
26. **Weiss NS.** Breast cancer mortality in relation to clinical breast examination and breast self-examination. *Breast J* 2003;9:86-9.
27. **Khatcheressian JL, Wolff AC, Smith TJ, et al.** American Society of Clinical Oncology 2006 update of the breast cancer follow-up and management guidelines in the adjuvant setting. *J Clin Oncol* 2006;24:5091-7.
28. **Rojas MP, Telaro E, Russo A, et al.** Follow-up strategies for women treated for early breast cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2005:CD001768.

29. **Mettlin CJ, Smart CR.** The Canadian National Breast Screening Study. An appraisal and implications for early detection policy. *Cancer* 1993;72(4 Suppl):1461-5.
30. **Smart CR, Hendrick RE, Rutledge JH, Smith RA.** Benefit of mammography screening in women ages 40 to 49 years. Current evidence from randomized controlled trials. *Cancer* 1995;75:1619-26.
31. **Cilotti A, Bagnolesi P, Moretti M, et al.** Comparison of the diagnostic performance of high-frequency ultrasound as a first- or second-line diagnostic tool in non-palpable lesions of the breast. *Eur Radiol* 1997;7:1240-44.
32. **Medeiros LR, Duarte CS, Rosa DD, et al.** Accuracy of magnetic resonance in suspicious breast lesions: a systematic quantitative review and meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat* 2011;126:273-85.
33. **Le-Petross HT, Shetty MK.** Magnetic resonance imaging and breast ultrasonography as an adjunct to mammographic screening in high-risk patients. *Semin Ultrasound CT MR* 2011;32:266-72.
34. **Le-Petross HT, Whitman GJ, Atchley DP, et al.** Effectiveness of alternating mammography and magnetic resonance imaging for screening women with deleterious BRCA mutations at high risk of breast cancer. *Cancer* 2011;117:3900-7.
35. **Saslow D, Boetes C, Burke W, et al.** American Cancer Society guidelines for breast screening with MRI as an adjunct to mammography. *CA Cancer J Clin* 2007;57:75-89.
36. **Kopans DS.** The positive predictive value of mammography. *AJR Am J Roentgenol* 1992;158:521-26.
37. **Miller RS, Adelman RW, Espinosa MH, et al.** The early detection of nonpalpable breast carcinoma with needle localization. Experience with 500 patients in a community hospital. *Am Surg* 1992;58:193-98.



38. **Pijpers R, Meijer S, Hoekstra OS, et al.** Impact of lymphoscintigraphy on sentinel node identification with technitium-99m colloidal albuminin breast cancer. *J Nucl Med* 1997;38:366–68.
39. **Lakhani S, Ellis I, Schnitt S, et al.** WHO/IARC Classification of Tumors of the breast, 4th edition, 2012.
40. **Gradishar WJ, Anderson BO, Balassanian R, et al.** NCCN clinical practice guidelines in oncology. Breast Cancer version 1.2016.
41. **Barzanti F, Dal Susino M, Volpi A, et al.** Comparison between different cell kinetic variables in human breast cancer. *Cell Prolif* 2000;33:75-89.
42. **Nadji M, Gómez-Fernández C, Ganjei-Azar P, Morales AR.** Immunohistochemistry of estrogen and progesteron receptors reconsidered experience with 5.993 breast cancers. *Am J Clin Pathol* 2005;123: 21-27.
43. **Craig D, Harvey JM, Berardo M, Clark GM.** Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. *Mod Pathol* 1998;11:155–68.
44. **Feeley LP, Mulligan AM, Pinnaduwege D, et al.** Distinguishing luminal breast cancersubtypes by Ki67, progesterone receptor or TP53 status provides prognostic information. *Mod Pathol* 2014;27:554-61.
45. **Muss HB, Thor AD, Berry DA, et al.** c-erb-B2 expression and response to adjuvant therapy in women with node-positive early breast cancer. *N Engl J Med* 1994;330:1260-66.
46. **Wolff AC, Hammond ME, Hicks DG, et al.** Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. *J Clin Oncol* 2013;31:3997-4013.
47. **Beck T, Weller EE, Weikel W, et al.** Usefulness immunohistochemical staining for p53 in the prognosis of breast carcinomas: correlations with stablished

prognosis parameters and with the proliferation marker mib-1. *Gynecol Oncol* 1999;57:96-104.

48. **Haerslev T, Jacobsen GK.** An immunohistochemical study of p53 with correlations with histopathological parameters, c-erb b-2, proliferating cell nuclear antigen, and prognosis. *Hum Pathol* 1995;26:295-301.

49. **O'Donoghue AE, Poller DN, Bell JA, et al.** Cathepsin D in primary breast carcinoma: adverse prognosis is associated with expression of cathepsin D in stromal cells. *Breast Cancer Res Treat* 1995;33:137-45.

50. **Menard S, Bufalino R, Rilke F, et al.** Prognosis based on primary breast carcinoma instead of pathological nodal status. *Br J Cancer* 1994;70:709-12.

51. **Weidner N, Semple JP, Welch WR, Folkman J.** Tumor angiogenesis and metastases. Correlation in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med* 1991;324:1-8.

52. **Nguyen NP, Almeida FS, Chi A, et al.** Molecular biology of breast cancer stem cells: potential clinical applications. *Cancer Treat Rev* 2010;36:485-91.

53. **Schwarzenbach H.** Circulating nucleic acids as biological markers in breast cancer. *Breast Cancer Res* 2013;26:211-18.

54. **Onstenk W, Gratama JW, Foekens JA, Sleijfer S.** Towards a personalized breast cancer treatment approach guided by circulating tumor cell (CTC) characteristics. *Cancer Treat Rev* 2013;39:691-700.

55. **Schnitt SJ.** Classification and prognosis of invasive breast cancer: from morphology to molecular taxonomy. *Mod Pathol* 2010;23:20-64.

56. **Zhang MH, Man HT, Zhao XD, et al.** Estrogen receptor-positive breast cancer molecular signatures and therapeutic potentials. *Biomedical Report* 2014;2:41-52.

57. **Zhao X, Rodland EA, Sorlie T, et al.** Systematic assesment of prognostic gene signatures for breast cancer shows distinct influence of time and ER status. BMC Cancer 2014;14:211-18.

58. **Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, et al.** Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. Ann Oncol 2013;24:2206-23.

59. **Kim C, Paik S.** Gene-expression-based prognostic assays for breast cancer. Nat Clin Pract Oncol 2005;2:26-33.

60. **Oakman C, Santarpia L, Di Leo A.** Breast cancer assessment tools and optimizing adjuvant therapy. Nat Rev Clin Oncol 2010;7:725-32.

61. **Van de Vijver MJ, He YD, van't Veer LJ, et al.** A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. N Engl J Med 2002;347:1999-2009.

62. **Buyse M, Loi S, van't Veer L, et al.** Validation and clinical utility of a 70-gene prognostic signature for women with node-negative breast cancer. J Natl Cancer Inst 2006;98:1183-92.

63. **Bueno-de-Mesquita JM, van Harten WH, Retel VP, et al.** Use of 70-gene signature to predict prognosis of patients with node-negative breast cancer: a prospective community-based feasibility study (RASTER). Lancet Oncol 2007;8:1079-87.

64. **Knauer M, Mook S, Rutgers EJ, et al.** The predictive value of the 70-gene signature for adjuvant chemotherapy in early breast cancer. Breast Cancer Res Treat 2010;120:655-61.

65. **Bueno-de-Mesquita JM, Linn SC, Keijzer R, et al.** Validation of 70-gene prognosis signature in node-negative breast cancer. Breast Cancer Res Treat 2009;117:483-95.

66. **Mook S, Schmidt MK, Weigelt B, et al.** The 70-gene prognosis signature predicts early metastasis in breast cancer patients between 55 and 70 years of age. *Ann Oncol* 2010;21:717–22.

67. **Saghatchian M, Mook S, Pruneri G, et al.** Additional prognostic value of the 70-gene signature (MammaPrint®) among breast cancer patients with 4-9 positive lymph nodes. *Breast* 2013;22:682-90.

68. **Alvarado M, Carter DL, Guenther JM, et al.** The impact of genomic testing on the recommendation for radiation therapy in patients with ductal carcinoma in situ: A prospective clinical utility assessment of the 12-gene DCIS score™ result. *J Surg Oncol* 2015;111:935-40.

69. **Albain KS, Barlow WE, Shak S, et al.** Prognostic and predictive value of the 21-gene recurrence score assay in postmenopausal women with node-positive, oestrogen-receptor-positive breast cancer on chemotherapy: a retrospective analysis of a randomised trial. *Lancet Oncol* 2010;11:55-65.

70. **Eiermann W, Rezai M, Kümmel S, et al.** The 21-gene recurrence score assay impacts adjuvant therapy recommendations for ER-positive, node-negative and node-positive early breast cancer resulting in a risk-adapted change in chemotherapy use. *Ann Oncol* 2013;24:618-24.

71. **Paik S, Tang G, Shak S, et al.** Gene expression and benefit of chemotherapy in women with node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer. *J Clin Oncol* 2006;24:3726-34.

72. **Rakovitch E, Nofech-Mozes S, Hanna W, et al.** A population-based validation study of the DCIS Score predicting recurrence risk in individuals treated by breast-conserving surgery alone. *Breast Cancer Res Treat* 2015;152:389-98.

73. **Sparano JA, Gray RJ, Makower DF, et al.** Prospective Validation of a 21-Gene Expression Assay in Breast Cancer. *N Engl J Med* 2015;373:2005-14.

74. **Dubsky P, Brase JC, Jakes R, et al.** The EndoPredict score provides prognostic information on late distant metastases in ER+/HER2- breast cancer patients. *B J Cancer* 2013;109:2959-64.
75. **Dubsky P, Filipits M, Jakesz R, et al.** EndoPredict improves the prognostic classification derived from common clinical guidelines in ER-positive, HER2-negative early breast cancer. *Ann Oncol* 2013;24:640-7.
76. **Kronenwett R, Bohmann K, Prinzler J, et al.** Decentral gene expression analysis: analytical validation of the Endopredict genomic multianalyte breast cancer prognosis test. *BMC Cancer* 2012;5:456-62.
77. **Caan BJ, Sweeney C, Habel LA, et al.** Intrinsic subtypes from the PAM50 gene expression assay in a population-based breast cancer survivor cohort: prognostication of short- and long-term outcomes. *Cancer Epidemiol* 2014;23:725-34.
78. **Chia SK, Bramwell VH, Tu D, et al.** A 50-gene intrinsic subtype classifier for prognosis and prediction of benefit from adjuvant tamoxifen. *Clin Cancer Res* 2012;18:4465-72.
79. **Dowsett M, Sestak I, Lopez-Knowles E, et al.** Comparison of PAM50 Risk of Recurrence Score with Oncotype DX and IHC4 for predicting risk of distant recurrence after endocrine therapy. *J Clin Oncol* 2013;31:2783-90.
80. **Cserni G, Amendoeira I, Apostolikas N, et al.** Discrepancies in current practice of pathological evaluation of sentinel lymph nodes in breast cancer. Results of a questionnaire based survey by the European Working Group for Breast Screening Pathology. *J Clin Pathol* 2004;57:695-701.
81. **Turner R, Ollila DW, Krasne DL, et al.** Histopathologic validation of the sentinel lymph node hypothesis for breast carcinoma. *Ann Surg* 1997;226:271-8.

82. **Lyman GH, Temin S, Edge SB, et al.** Sentinel lymph node biopsy for patients with early-stage breast cancer. American Sentinel Lymph Node Biopsy for Patients With Early-Stage Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Update. *J Clin Oncol* 2014;13:1365-83.

83. **Chu PG, Weiss LM.** Keratin expression in human tissues and neoplasms. *Histopathology* 2001;40:403-39.

84. **Hughes SJ, Xi L, Raja S, et al.** A rapid, fully automated, molecular-based assay accurately analyses sentinel lymph nodes for the presence of metastatic breast cancer. *Ann Surg* 2006;243:389-98.

85. **Notomi T, Okayama H, Hasubuchi H, et al.** Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Res* 2000;28:E63.

86. **Mori Y, Nagamine K, Tomita N, et al.** Detection of loop-mediated isothermal amplification reaction by turbidity derived from magnesium pyrophosphate formation. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;289:150-4.

87. **Bernet L, Piñero A, Vidal-Sicart S, et al.** Sociedad Española de Senología y Patología Mamaria. Propuesta de consenso sobre la biopsia selectiva de ganglio centinela en el cáncer de mama. Revisión 2013.

88. **Bernet Vegué L, Martínez Benaclocha M, Cano Muñoz R, et al.** Molecular Diagnosis of Sentinel Lymph Nodes for Breast Cancer: One Step Ahead for Standardization. *Diagn Mol Pathol* 2011;20:18-21.

89. **Alvarenga CA, Paravidino PI, Alvarenga M, et al.** Expression of CK19 in invasive breast carcinomas of special histological types: implications for the use of one-step nucleic acid amplification. *J Clin Pathol* 2011;64:493-7.

90. **Halsted WS.** The results of operations for the cure of cancer of the breast performed at the Johns Hopkins Hospital from June 1889 to January 1894. *Ann Surg* 1894;20:497-555.

91. **Fisher B, Redmond C, Fisher ER, et al.** Ten year results of a randomized clinical trial comparing radical mastectomy and total mastectomy with or without radiation. *N Engl J Med* 1985;312:674-82.

92. **Fisher B, Wolmark N, Redmond C, et al.** Findings from NSABP Protocol nº B-04: comparison of radical mastectomy with alternative treatments. The clinical and biological significance of medial-central breast cancers. *Cancer* 1981;48:1863-72.

93. **Veronesi U, Cascinelli N, Mariani L, et al.** Twenty year follow up of a randomized study comparing breast-conserving surgery with radical mastectomy for early breast cancer. *N Engl J Med* 2002;347:1227-32.

94. **Fisher ER, Anderson S, Redmond C, Fisher B.** Ipsilateral breast tumor recurrence and survival following lumpectomy and irradiation: pathological findings from NSABP protocol B-06. *Semin Surg Oncol* 1992;8:161-6.

95. **Fisher B, Anderson S, Bryant J, et al.** Twenty year follow up of a randomized trial comparing total mastectomy, lumpectomy, and lumpectomy plus irradiation for the treatment of invasive breast cancer. *N Engl J Med* 2002;347:1233-41.

96. **Carlson RW, Allred DC, Anderson BO, et al.** Invasive breast cancer. *J Natl Compr Canc Netw* 2011;9:136-222.

97. **Toth BA, Lappert P.** Modified skin incisions for mastectomy: the need for plastic surgical input in preoperative planning. *Plast Reconstr Surg* 1991;87:1048-53.

98. **Carlson GW, Styblo TM, Lyles RH, et al.** The use of skin sparing mastectomy in the treatment of breast cancer: The Emory experience. *Surg Oncol* 2003;12:265-9.

99. **Antonini N, Jones H, Horiot JC, et al.** Effect of age and radiation dose on local control after breast conserving treatment: EORTC trial 22881-10882. *Radiother Oncol* 2007;82:265-71.

100. **Pierce LJ, Levin AM, Rebbeck TR, et al.** Ten-year multi-institutional results of breast conserving surgery and radiotherapy in BRCA1/2-associated stage I/II breast cancer. *J Clin Oncol* 2006;24:2437-43.
101. **Vicini FA, Goldstein NS, Pass H, Kestin LL.** Use of pathologic factors to assist in establishing adequacy of excision before radiotherapy in patients treated with breast-conserving therapy. *J Radiat Oncol Biol Phys* 2004;60:86-94.
102. **Nguyen PL, Taghian AG, Katz MS, et al.** Breast cancer subtype approximated by strogen receptor, preogesterone receptor, and Her-2 is associated with local and distant recurrence after breast-conserving therapy. *J Clin Oncol* 2008;26:2373-8.
103. **Poortmans PM, Collette L, Horiot JC, et al.** Impact of the boost dose of 10 Gy versus 26 Gy in patients with early stage breast cancer after a microscopically incomplete lumpectomy: 10-year results of the randomized EORTC boost trial. *Radiother Oncol* 2009;90:80-5.
104. **Early Breast Cancer Trialists Collaborative Group (EBCTCG), Darby S, McGale P, et al.** Effect of radiotherapy after breast-conserving surgery on 10-year recurrence and 15-year breast cancer death: meta-analysis of individual patient data for 10,801 women in 17 randomised trials. *Lancet* 2011;378:1707-16.
105. **Smith BD, Arthur DW, Buchholz TA, et al.** Accelerated partial breast irradiation consensus stamen from de American Society for Radiation Oncology (AS-TRO). *Int J Radiat Oncol Phys* 2009;74:987-1001.
106. **Polgár C, Van Limbergen E, Pötter R, et al.** Patient selection for accelerated parcial-breast irradiation after breast-conserving surgery: recommendations of the GEC-ESTRO breast cancer working group based on clinical evidence. *Radiother Oncol* 2010;94:264-73.



107. **Giuliano AE, Hawes D, Ballman KV, et al.** Association of occult metastases in sentinel lymph nodes and bone marrow with survival among women with early-stage invasive breast cancer. *JAMA* 2011;306:385-93.
108. **Donker M, Straver ME, Van Tienhoven G, et al.** Comparison of the sentinel node procedure between patients with multifocal and unifocal breast cancer in the EORTC 10981-22023 AMAROS Trial: Identification rate and nodal outcome. *Eur J Cancer* 2013;49:2093-100.
109. **Donker M, van Tienhoven G, Straver ME, et al.** Radiotherapy or surgery of the axilla after a positive sentinel node in breast cancer (EORTC 10981-22023 AMAROS): a randomised, multicentre, open-label, phase 3 non-inferiority trial. *Lancet Oncology* 2014;15:1303-10.
110. **Farrús Lucaya B.** Indicaciones de la radioterapia en el cáncer de mama. *Cursos Clínic de Formación Continuada en Obstetricia y Ginecología: Ginecología Oncológica* 2015;1:485-505.
111. **Moo TA, McMillan R, Lee M, et al.** Selection criteria for postmastectomy radiotherapy in T1-2 tumors with 1 to 3 positive lymph nodes. *Ann Surg Oncol* 2013;20:3169-74.
112. **Henderson J, Berry DA, Demtri GD, et al.** Improved outcomes from adding sequential paclitaxel but not from escalating doxorubicin dose in and adjuvant chemotherapy regimen for patients with node-positive primary breast cancer. *J Clin Oncol* 2003;21:976-83.
113. **Mamounas EP, Bryant J, Lembersky B, et al.** Paclitaxel following doxorubicin/cyclophosphamide as adjuvant chemotherapy for node-positive breast cancer: results from NSABP B28. *J Clin Oncol* 2005;23:3686-96.
114. **Martín M, Rodríguez-Lescure A, Ruiz A, et al.** Randomized phase III trial of fluorouracil, epirubicin and cyclophosphamide alone or followed by paclitaxel for early breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2008;100:805-14.

115. **Martin M, Pienkowski T, Mackey J et al.** Adjuvant docetaxel for node-positive breast cancer. *N Engl J Med* 2005;352:2302-13.
116. **Roché H, Fumoleau P, Spielmann M, et al.** Sequential adjuvant epirubicin-based and docetaxel chemotherapy for node-positive breast cancer patients: the FNCLCC PACS 01 Trial. *J Clin Oncol* 2006;24:5664-71.
117. **Hammond ME, Hayes DF, Dowsett M, et al.** American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologist guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *J Clin Oncol* 2010;28:278-84.
118. **Prat A, Cheang MC, Martín M, et al.** Prognostic significance of progesterone receptor-positive tumor cells within immunohistochemically defined luminal A breast cancer. *J Clin Oncol* 2012;31:203-9.
119. **Falck AK, Ferno M, Bendahl PO, Ryden L.** St Gallen molecular subtypes y primary breast cancer and matched lymph node metastases - aspects on distribution and prognosis for patients with luminal A tumors: results from a prospective randomised trial. *BMC Cancer* 2013;13:558-66.
120. **Piccart-Gebhart MJ, Procter M, Leyland-Jones B, et al.** Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in Her2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 2005;353:1659-72.
121. **Romond EH, Perez EA, Bryant J, et al.** Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable Her2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 2005;353:1673-84.
122. **Slamon D, Eiermann W, Robert N, et al.** Phase III randomized trial comparing ACT with AC TH with TCH in Her2 positive early breast cancer patients. BCIRG 006 study. *Breast Cancer Res Treat* 2005;94:5-11.

123. **Gould EA, Winship T, Philbin PH, Kerr HH.** Observations on a “sentinel node” in cancer of the parotid. *Cancer* 1960;13:77-8.
124. **Cabañas RM.** An approach for the treatment of penile carcinoma. *Cancer* 1977;39:456-66.
125. **Morton DL, Wen DR, Wong JH, et al.** Technical details of intraoperative lymphatic mapping for early stage melanoma. *Arch Surg* 1992;127:393-9.
126. **Giuliano AE, Kirgan DM, Guenther JM, Morton DL.** Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. *Ann Surg* 1994;220:391-401.
127. **Alex JC, Krag DN.** Gamma probe guided localization of lymph nodes. *Surg Oncol* 1993;2:137-43.
128. **Alex JC, Krag DN.** Gamma-probe-guided lymph node localization in malignant melanoma. *Surg Oncol* 1993;2:303-8.
129. **Krag DN, Alex JC.** Surgical resection and radiolocalization of the sentinel lymph node in breast cancer using a gamma probe. *Surg Oncol* 1993;2:335-40.
130. **Vinagre Martínez LM.** Guía clínica de cirugía de la mama. Arán Ediciones SL 2006;1:27-37.
131. **Mabry H, Giuliano AE.** Sentinel node mapping for breast cáncer: progress to date and prospects for the future. *Surg Oncol Clin N Am* 2007;16:55-62.
132. **Gill G, SNAC Trial Group of the Royal Australasian College of Surgeons (RACS) and NHMRC Clinical Trials Center.** Sentinel-lymph-node-based management of routine axillary clearance. One year outcomes of sentinel node biopsy versus axillary clearance (SNAC): a randomized controlled surgical trial. *Ann Surg Oncol* 2009;16:266-75.

133. **Chen AY, Halpern MT, Schrag NM, et al.** Disparities and trends in sentinel node biopsy among early-stage breast cancer patients (1998-2005). *J Natl Cancer Inst* 2008;100:462-69.

134. **Veronesi U, Viale G, Paganelli G, et al.** Sentinel lymph node biopsy in breast cancer: ten-year results of a randomized controlled study. *Ann Surg* 2010;252:595-602.

135. **Andersson Y, de Boniface J, Jonsson PE, et al.** Axillary recurrence rate 5 years after negative sentinel node biopsy for breast cancer. *Br J Surg* 2012;99:226-31.

136. **Krag DN, Anderson SJ, Julian TB, et al.** Technical outcomes of sentinel-lymph-node resection and conventional axillary-lymph-node dissection in patients with clinically node-negative breast cancer: results from the NSABP B-32 randomised phase III trial. *Lancet Oncol* 2007;8:881-8.

137. **Krag DN, Julian TB, Harlow SP, et al.** NSABP B-32: phase III, randomised trial comparing axillary resection with sentinel lymph node dissection: a description of the trial. *Ann Surg Oncol* 2004;11:208-15.

138. **Krag DN, Anderson SJ, Julian TB, et al.** Primary outcome results of NSABP B-32, a randomised phase III clinical trial to compare sentinel-lymph-node resection to conventional axillary-lymph-node dissection in clinically node-negative breast cancer patients. *J Clin Oncol* 2010;28:18-25.

139. **Krag D, Weaver D, Ashikaga T, et al.** The sentinel node in breast cancer. A multicenter validation study. *N Engl J Med* 1998;339:941-6.

140. **Kuehn T, Vogl FD, Helms G, et al.** German multi-institutional trial. *Eur J Surg Oncol* 2004;30:252-9.

141. **Fontein DB, van de Water W, Mieog JS, et al.** Timing of the sentinel lymph node biopsy in breast cancer patients receiving neoadjuvant therapy. Recommendations for clinical guidance. *Eur J Surg Oncol* 2013;39:417-24.
142. **Boughey JC, Suman VJ, Mittendorf EA, et al.** Sentinel lymph node surgery after neoadjuvant chemotherapy in patients with node positive breast cancer: the ACOSOG Z1071 (Alliance) clinical trial. *JAMA* 2013;310:1455-61.
143. **Kuehn T, Bauerfeind I, Feh T, et al.** Sentinel Node Biopsy before or after NeoAdjuvant Systemic Treatment: The German SENTINA Trial. *Cancer Res* 2009;69:3-10.
144. **Moncayo VM, Aarsvold JN, Grant SF, et al.** Status of sentinel lymph node for breast cancer. *Semin Nucl Med* 2013;43:281-93.
145. **Vidal-Sicart S, Valdés-Olmos R.** Sentinel node mapping for breast cancer: current situation. *J Oncol* 2012;3:613-41.
146. **National Institute for Health and Care Excellence.** Diagnostics consultation document. Intraoperative tests (RD-100i OSNA system and Metasin test) for detecting sentinel lymph node metastases in breast cancer. NICE 2013, pp. 1-37.
147. **The Japanese Breast Cancer Society.** Clinical practice guideline of breast cancer. Is the sentinel lymph node analysis recomendable? *CQID* 2013;1:601401.
148. **Cserni G.** Intraoperative analysis of sentinel lymph nodes in breast cancer by one-step nucleic acid amplification. *J Clin Pathol* 2012;65:193-9.
149. **Senkus E, Kyriakides S, Ohno S, et al.** Primary breast cancer: ESMO clinical practice guidelines. *Ann Oncol* 2015;26(suppl 5):v8-v30.
150. **Kaufmann M, Morrow M, von Minwitz G, et al.** Locoregional treatment of primary breast cancer: consensus recommendations from an international expert panel. *Cancer* 2010;116:1184-91.

151. **Weaver DL, Ashikaga T, Krag DN, et al.** Effect of occult metastases on survival in node-negative breast cancer. *N Engl J Med* 2011;364:412-18.
152. **Haffty BG, Hunt KK, Harris JR, Buchholz TA.** Positive sentinel nodes without axillary dissection: implications for the Radiation Oncologist. *J Clin Oncol* 2011;29:4479-81.
153. **Degnim AC, Griffith KA, Sabel MS, et al.** Clinicopathological features of metastasis in non sentinel lymph nodes of breast carcinoma patients. *Cancer* 2003;98:2307-15.
154. **Van Zee KJ, Manasseh DM, Bevilacqua JL, et al.** A nomogram for predicting the likelihood of additional nodal metastases in breast cancer patients with a positive sentinel node biopsy. *Ann Surg Oncol* 2003;10:1140-51.
155. **Viale G, Maiorano E, Prunerì G, et al.** Predicting the risk of additional axillary metastases in patients with breast carcinoma and positive sentinel lymph node biopsy. *Ann Surg* 2005;24:319-25.
156. **Van Rijk MC, Peterse JL, Nieweg OE, et al.** Predicting the risk for additional axillary metastases in patients with breast carcinoma and positive sentinel lymph node biopsy. *Ann Surg* 2005;24:319-25.
157. **Ganaraj A, Kuhn JA, Jones RC, et al.** Predictors for nonsentinel node involvement in breast cancer patients with micrometastases in the sentinel lymph node. *Proc (Bayl Univ Med Cent)* 2003;16:3-6.
158. **Fournier K, Schiller A, Perry RR, et al.** Micrometastases in the sentinel lymph node of breast cancer does not mandate completion axillary dissection. *Ann Surg* 2004;239:859-63.
159. **Kumar S, Bramlage M, Jacks LM, et al.** Minimal disease in the sentinel lymph node: how to best measure sentinel node micrometastases to predict the risk of additional non-sentinel lymph node disease. *Ann Surg Oncol* 2010;17:11-19.

160. **Straver ME, Meijnen P, van tienhoven G, et al.** Sentinel node identification rate and nodal involvement in the EORTC 10981-22023 AMAROS trial. *Ann Surg Oncol* 2010;17:1854-61.

161. **Rao R, Euhus D, Mayo G, Balch C.** Axillary node interventions in breast cancer: a systematic review. *JAMA* 2013;310:1385-94.

162. **Francissen CM, Dings PJ, van dalen T, et al.** Axillary recurrence after a tumor-positive sentinel lymph node biopsy without axillary treatment: a review of the literature. *Ann Surg Oncol* 2012;19:4140-46.

163. **Giuliano AE, McCall LM, Beitsch PD, et al.** ACOSOG Z0011: A randomized trial of axillary node dissection in women with clinical T1-2 N0 M0 breast cancer who have a positive sentinel node. *J Clin Oncol* 2010;28:18-25.

164. **Galimberti V, Cole BF, Zurrida S, et al.** Axillary dissection versus no axillary dissection in patients with sentinel-node micrometastases (IBCSG 23-01): a phase 3 randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 2013;14:297-305.

165. **Langer I, Guller U, Viehl CT, et al.** Axillary lymph node dissection for sentinel lymph node micrometastases may be safely omitted in early-stage breast cancer patients: long-term outcomes of a prospective study. *Ann Surg Oncol* 2009;16:3366-74.

166. **Yegigants S, Romero LM, Haigh PI, et al.** Completion axillary lymph node dissection not required for regional control in patients with breast cancer who have micrometastases in a sentinel node. *Arch Surg* 2010;145:564-9.

167. **Hansen NM, Grube B, Ye X, et al.** Impact of micrometastases in the sentinel node of patients with invasive breast cancer. *J Clin Oncol* 2009;27:4679-84.

168. **De Boer M, Van Deurzen CH, Van Dijck JA, et al.** Micrometastases or isolated tumor cells and the outcome of breast cancer. *N Eng J Med* 2009;361:653-63.

169. **Giuliano AE, Hunt KK, Ballman KV, et al.** Axillary dissection versus no axillary dissection in women with invasive breast cancer and sentinel node metastases: a randomized clinical trial. *JAMA* 2011; 305:569-75.

170. **Piñero A, Algara M, Bernet L, et al.** Encuesta nacional sobre la actitud ante el hallazgo de metástasis en el ganglio centinela por cáncer de mama en distintas unidades hospitalarias. *Rev Senol Patol Mamar* 2012;25:89-95.

171. **Osako T, Iwase T, Kimura K, et al.** Intraoperative molecular assay for sentinel lymph node metastases in early stage breast cancer. A comparative analysis between one-step nucleic acid amplification whole node assay and routine frozen section histology. *Cancer* 2011;117:4365-74.

172. **Castellano I, Macrì L, Deambrogio C, et al.** Reliability of whole sentinel lymph node analysis by one-step nucleic acid amplification for intraoperative diagnosis of breast cancer metastases. *Ann Surg* 2012;255:334-42.

173. **Ohi Y, Umekita Y, Rai Y, et al.** Whole sentinel lymph node analysis by a molecular assay predicts axillary node status in breast cancer. *Br J Cancer* 2012;107:1-5.

174. **Deambrogio C, Castellano I, Paganotti A, et al.** A new clinical cut-off of cytokeratin 19 mRNA copy number in sentinel lymph node better identifies patients eligible for axillary lymph node dissection in breast cancer. *J Clin Pathol* 2014;67:702-6.

175. **Peg V, Espinosa-Bravo M, Vieites B, et al.** Intraoperative molecular analysis of total tumor load in sentinel lymph node: a new predictor of axillary status in early breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2013;139:87-93.

176. **Espinosa-Bravo M, Sansano I, Pérez-Hoyos S, et al.** Prediction of non-sentinel lymph node metastases in early breast cancer by assesing total tumor load in the sentinel lymph node by molecular assay. *Eur J Surg Oncol* 2013;39:766-73.



177. **Bernal Pérez M, Villavieja Atance L, Moros García M, et al.** Declining age at diagnosis of breast cancer. *Prog Obstet Ginecol* 2011;54:397-402.
178. **Dunnwald LK, Rossing MA, Li CI.** Hormone receptor status, tumor characteristics, and prognosis: a prospective cohort of breast cancer patients. *Breast Cancer Res* 2007;9:R6-14.
179. **Tabar L, Faberger G, Gad A, et al.** Reduction in mortality from breast cancer after mass screening with mammography. *Lancet* 1985;1:829-32.
180. **Pisano ED, Gatsonis C, Hendrick E.** Diagnostic performance of digital versus film mammography for breast cancer screening. *N Engl J Med* 2005;353:1773-83.
181. **Li CI, Uribe DJ, Daling JR.** Clinical characteristics of different histologic types of breast cancer. *Br J Cancer* 2005;93:1046-52.
182. **Bernoux A, Cremoux P, Lainé-Bidron C, et al.** Estrogen receptor negative and progesterone receptor positive primary breast cancer: Pathological characteristics and clinical outcome. *Breast Cancer Res Treat* 1998;49:219-25.
183. **Mansel RE, Fallowfield L, Kissin M, et al.** Randomized multicenter trial of sentinel node biopsy versus standard axillary treatment in operable breast cancer: the ALMANAC Trial. *J Natl Cancer Inst* 2006;98:599-609.
184. **Giuliano AE, McCall L, Beitsch P, et al.** Locoregional recurrence after sentinel lymph node dissection with or without axillary dissection in patients with sentinel lymph node metastases: the American College of Surgeons Oncology Group randomized trial. *Ann Surg* 2010;252:426-33.
185. **Parl FF, Schmidt BP, Dupont WD, Wagner RK.** Prognostic Significance of Estrogen Receptor Status in Breast Cancer in Relation to Tumor Stage, Axillary Node Metastasis, and Histopathologic Grading. *Cancer* 1984;54:2237-42.

186. **Fisher B, Redmond C, Fisher ER, Caplan R.** Relative worth of estrogen or progesterone receptor and pathologic characteristics of differentiation as indicators of prognosis in node negative breast cancer patients: findings from NSABP PB-06. *J Clin Oncol* 1988;6:1076–87.

187. **Crowe JP, Gordon NH, Hubay CA, et al.** Estrogen receptor determination and long term survival of patients with carcinoma of the breast. *Surg Gynecol Obstet* 1991;173:273–78.

188. **Anderson WF, Chu KC, Chatterjee N, et al.** Tumor variants by hormone receptor expression in white patients with node-negative breast cancer from the surveillance, epidemiology, and end results database. *J Clin Oncol* 2001;19:18–27.

189. **Parise CE, Bauer KR, Brown MM, et al.** Breast cancer subtypes as defined by the estrogen receptor, progesterone receptor and the Her2 among women with invasive breast cancer in California 1999-2004. *Breast J* 2009;15:593-602.

190. **Fraile M, Giménez J.** Criterios de evaluación y estándares de calidad, reunión de consenso sobre biopsia selectiva de ganglio centinela en el cáncer de mama. SESPM. 2007.

191. **Wong SL, Edwards MJ, Chao C, et al.** Sentinel lymph node biopsy for breast cancer: impact of the number of sentinel nodes removed on the false-negative rate. *J Am Coll Surg* 2001;192:684-91.

192. **Chung A, Yu J, Stempel M, et al.** Is the "10% rule" equally valid for all subsets of sentinel node positive breast cancer patients? *Ann Surg Oncol* 2008;15:2728-33.

193. **Dutta R, Kluftringer A, MacLeod M, et al.** Revisiting the "10% rule" in breast cancer sentinel lymph node biopsy: an approach to minimize the number of sentinel lymph nodes removed. *Am J Surg* 2012;203:623-7.

194. **Goyal A, Newcombe RG, Mansel RE.** Clinical relevance of multiple sentinel nodes in patients with breast cancer. *Br J Surg* 2005;92:438-42.
195. **Zakaria S, Degnim AC, Kleer CG, et al.** Sentinel lymph node biopsy for breast cancer: how many nodes are enough? *J Surg Oncol* 2007;96:554-9.
196. **Boileau JF, Easson A, Escallon JM, et al.** Sentinel nodes in breast cancer: relevance of level II axillary nodes and optimal number of nodes that need to be removed. *Ann Surg Oncol* 2008;15:1710-6.
197. **Ban EJ, Lee JS, Koo JS, et al.** How many sentinel lymph nodes are enough for accurate axillary staging in T1-2 breast cancer? *J Breast Cancer* 2011;14:296-300.
198. **Kim T, Giuliano AE, Lyman GH.** Lymphatic mapping and sentinel lymph node biopsy in early-stage breast carcinoma. *Cancer* 2006;106:4-16.
199. **Park J, Fey JV, Naik AM, et al.** A Declining Rate of Completion Axillary Dissection in Sentinel Lymph Node-positive Breast Cancer Patients Is Associated With the Use of a Multivariate Nomogram. *Ann Surg* 2007;245:462–68.
200. **Bilimoria KY, Bentrem DJ, Hansen NM, et al.** Comparison of sentinel lymph node biopsy alone and completion axillary lymph node dissection for node-positive breast cancer. *J Clin Oncol* 2009;27:2946-53.
201. **Sanjuán A, Vidal-Sicart S, zanon G, et al.** Clinical axillary recurrence after sentinel node biopsy in breast cancer: a follow-up study of 220 patients. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2005;32:932-6.
202. **van der Ploeg IM, Kroor BB, Antonini N, et al.** Axillary and extra-axillary lymph node recurrences after a tumor negative sentinel node biopsy for breast cancer using intralesional tracer administration. *Ann Surg Oncol* 2008;15:1025-31.

203. **Kim T, Giuliano AE, Lyman GH, et al.** Lymphatic mapping and sentinel lymph node biopsy in early stage breast carcinoma: a metaanalysis. *Cancer* 2006;106:4-16.

204. **Tamaki Y, Akiyama F, Iwase T, et al.** Molecular detection of lymph node metastases in breast cancer patients: results of a multicenter trial using the one-step nucleic acid amplification assay. *Clin Cancer Res* 2009;15:2879-84.

205. **Sagara Y, Ohi Y, Matsukata A, et al.** Clinical application of the one-step nucleic acid amplification method to detect sentinel lymph node metastasis in breast cancer. *Breast Cancer* 2013;20:181-6.

206. **Snook KL, Layer GT, Jackson PA, et al.** Multicentre evaluation of intraoperative molecular analysis of sentinel lymph nodes in breast carcinoma. *Br J Surg* 2011;98:527-35.

207. **Houvenaeghel G, Nos C, Mignotte H, et al.** Micrometastases in sentinel lymph node in a multicentric study: predictive factor of nonsentinel lymph node involvement. Groupe des Chirurgiens de la Federation des Centres de Lutte Contre le Cancer. *J Clin Oncol* 2006;24:1814-22.

208. **Salhab M, Patani N, Mokbel K.** Sentinel lymph node micrometastases in human breast cancer: an updated. *Surg Oncol* 2011;20:195-206.

209. **Van Rijk MC, Peterse JL, Nieweg OE, et al.** Additional axillary metastases and stage migration in breast cancer patients with micrometastases or submicrometastases in sentinel lymph nodes. *Cancer* 2006;107:467-71.

210. **Giuliano AE, Jones RC, Brennan M, Statman R.** Sentinel lymphadenectomy in breast cancer. *J Clin Oncol* 1997;15:2345-2350.

211. **Giuliano AE, Dale PS, Turner RR, et al.** Improved axillary staging of breast cancer with sentinel lymphadenectomy. *Ann Surg* 1995;222:394-401.

212. **Cronin-Fenton DP, Ries LA, Clegg LX, et al.** Rising incidence rates of breast carcinoma with micrometastatic lymph node involvement. *J Natl Cancer Inst* 2007;99:1044-9.
213. **Tvedskov TF.** Staging of women with breast cancer after introduction of sentinel lymph node guided axillary dissection. *Dan Med J* 2012;59:B4475.
214. **Cserni G, Gregori D, Merletti F, et al.** Meta-analyses of non-sentinel node metastases associated with micrometastatic sentinel nodes in breast cancer. *Br J Surg* 2004;91:1945-52.
215. **Chen JJ, Chen JY, Yang BL, et al.** Comparison of molecular analysis and touch imprinting cytology for the intraoperative biopsy of sentinel lymph nodes in primary breast cancer: results of the China Breast Cancer Clinical Study Group (CBCSG) 001c trial. *Eur J Surg Oncol* 2013;39:442-9.
216. **Santaballa A, De La Cueva H, Salvador C, et al.** Advantages of OSNA whole node assay in sentinel lymph node analysis in breast cancer. *Springerplus* 2013;2:542-3.
217. **Zavagno G, de Salvo GL, Scalco G, et al.** Randomized clinical trial on sentinel lymph node biopsy versus axillary lymph node dissection in breast cancer: results of the Sentinella/GIVOM trial. *Ann Surg* 2008;247:207-13.
218. **Rutgers EJ.** Sentinel lymph node biopsy: interpretation and management of patients with immunohistochemistry-positive sentinel nodes and those with micrometastases. *J Clin Oncol* 2008;26:698-702.
219. **Krag DN, Anderson SJ, Julian TB, et al.** Sentinel-lymph-node resection compared with conventional axillary-lymph-node dissection in clinically node-negative patients with breast cancer: overall survival findings from the NSABP B-32 randomised phase III trial. *Lancet Oncol* 2010;11:927-933.

220. **Giuliano AE, Han SH.** Local and regional control in breast cancer: role of sentinel node biopsy. *Adv Surg* 2011;45:101-16.

221. **Guenther JM, Hansen NM, DiFronzo LA, et al.** Axillary Dissection Is Not Required for All Patients With Breast Cancer and Positive Sentinel Nodes. *Arch Surg* 2003;138:52-56.

222. **Fan YG, Tan YY, Wu CT, et al.** The Effect of Sentinel Node Tumor Burden on Non-Sentinel Node Status and Recurrence Rates in Breast Cancer. *Ann Surg Oncol* 2005;12:705-11.

223. **Hwang RF, Gonzalez-Angulo AM, Yi M, et al.** Low locoregional failure rates in selected breast cancer patients with tumor-positive sentinel lymph nodes who do not undergo completion axillary dissection. *Cancer* 2007;110:723–30.

224. **Latosinsky S, Berrang TS, Cutter CS, et al.** Axillary dissection vs no axillary dissection in women with invasive breast cancer and sentinel node metastases. *Can J Surg* 2012;55:66-9.

225. **Morrow M, Giuliano AE.** To cut is to cure: can we really apply Z11 in practice? *Ann Surg Oncol* 2011;18:2413-5.

226. **Caudle AS, Hunt KK, Kuerer M, et al.** Multidisciplinary considerations in the implementation of the findings from the ACOSG Z0011 study: a practice changing trial. *Ann Surg Oncol* 2011;18:2407-12.

227. **Gainer SM, Hunt KK, Beitsch P, et al.** Changing behaviour in clinical practice in response to the ACSOG Z0011 trial: A survey of the American Society of Breast Surgeons. *Ann Surg Oncol* 2012;19:3152-8.

228. **Caudle AS, Hunt KK, Tucker SL, et al.** ACOSOG Z0011: Impact on Surgeon Practice Patterns. *Ann Surg Oncol* 2012;19:3144-51.

229. [https://www.breastsurgeons.org/statements/PDF\\_Statements/Axillary\\_Management.pdf](https://www.breastsurgeons.org/statements/PDF_Statements/Axillary_Management.pdf).

230. **Sola M, Alberro JA, Fraile M, et al.** Complete axillary lymph node dissection versus clinical follow up in breast cancer patients with sentinel node micrometastases: final results from the multicenter clinical trial AATRM 048/13/2000. *Ann Surg Oncol* 2013;20:120-7.

231. **Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, et al.** Strategies for subtypes - dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. *Ann Oncol* 2011;22:1736-47.

232. **Oliveira M, Cortes J, Bellet M, et al.** Management of the axilla in early breast cancer patients in the genomic era. *Ann Oncol* 2013;24:1163-70.

233. **Pernas S, Gil M, Benítez A, et al.** Avoiding axillary treatment in sentinel lymph node micrometastases of breast cancer: a prospective analysis of axillary or distant recurrence. *Ann Surg Oncol* 2010;17:772-7.

234. **Hwang RF, González Angulo AM, Yi M, et al.** Low locoregional failure rates in selected breast cancer patients with tumor-positive sentinel lymph nodes who do not undergo completion axillary dissection. *Cancer* 2007;110:723-30.

235. **Naik AM, Fey J, Gemignani M, et al.** The risk of axillary relapse after sentinel lymph node biopsy for breast cancer is comparable with that of axillary lymph node dissection: a follow-up study of 4008 procedures. *Ann Surg* 2004;240:462-71.

236. **Rayhanabad J, Yegiyants S, Putschakayala K, et al.** Axillary recurrence is low in patients with breast cancer who do not undergo completion axillary lymph node dissection for micrometastases in sentinel lymph nodes. *Am Surg* 2010;76:1088-91.

237. **Chu KU, Turner RR, Hansen NM, et al.** Do all patients with sentinel node metastasis from breast carcinoma need complete axillary node dissection? *Ann Surg* 1999;229:536-41.

238. **Reynolds C, Mick R, Donohue JH, et al.** Sentinel Lymph Node Biopsy With Metastasis: Can Axillary Dissection Be Avoided in Some Patients With Breast Cancer? *J Clin Oncol* 1999;17:1720-6.

239. **Viale G, Maiorano E, Pruneri G, et al.** Predicting the Risk for Additional Axillary Metastases in Patients With Breast Carcinoma and Positive Sentinel Lymph Node Biopsy. *Ann Surg* 2005;241:319–25.

240. **Degnim AC, Reynolds C, Pantvaidya G, et al.** Non-sentinel node metastasis in breast cancer patients: assesment of an existing and a new predicting nomogram. *Am J Surg* 2005;190:543-50.

241. **Pal A, Provenzano E, Duffy SW, et al.** A model for predicting non-sentinel lymph node metastatic disease when the sentinel lymph node is positive. *Br J Surg* 2008;95:302-9.

242. **Kohrt HE, Olshen RA, Bermas HR, et al.** New models and online calculator for predicting non-sentinel lymph node status in sentinel lymph node positive breast cancer patients. *BMC Cancer* 2008;8:66-72.

243. **Katz A, Smith BL, Golshan M, et al.** Nomogram for the prediction of having four or more involved nodes for sentinel lymph node positive breast cancer. *J Clin Oncol* 2008;26:2093-8.

244. **Meretoja TJ, Strien L, Heikkila PS, et al.** A simple nomogram to evaluate the risk of non-sentinel node metastases in breast cancer patients with minimal sentinel node involvement. *Ann Surg Oncol* 2012;19:567-76.

245. **Meretoja TJ, Leidenius MH, Heikkila PS, et al.** International multicenter tool to predict the risk of nonsentinel node metastases in breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2012;104:1888-96.



246. **Barranger E, Coutant C, Flahault A, et al.** An axilla scoring system to predict non-sentinel lymph node status in breast cancer patients with sentinel lymph node involvement. *Breast Cancer Res* 2005;91:113-9.

247. **Hwang RF, Krishnamurty S, Hunt KK, et al.** Clinicopathologic factors predicting involvement of nonsentinel axillary nodes in women with breast cancer. *Ann Surg Oncol* 2003;10:248-54.

248. **Saidi RF, Dudrick PS, Remine SG, et al.** Nonsentinel lymph node status after positive sentinel lymph node biopsy in early breast cancer. *Am Surg* 2004;70:101-5.

249. **Zhu L, Jin L, Li S, et al.** Which nomogram is the best for predicting non-sentinel lymph node metastases in breast cancer patients? A meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat* 2013;137:783-95.

250. **Gur AS, Unal B, Johnson R, et al.** Predictive probability of four different breast cancer nomograms for non axillary lymph node metastases in positive sentinel node biopsy. *J Am Coll Surg* 2009;208:229-35.

251. **Pinero A, Canteras M, Moreno A, et al.** Multicenter validation of two nomograms to predict non-sentinel node involvement in breast cancer. *Clin Transl Oncol* 2013;15:117-23.

252. **Sasada T, Murakami S, Kataoka T, et al.** Memorial Sloan Kettering Cancer Center Nomogram to predict the risk of non-sentinel lymph node metastases in Japanese breast cancer patients. *Surg Today* 2012;42:245-9.

253. **van la Parra RF, Francissen CM, Peer PG, et al.** Assessment of the Memorial Sloan Kettering Cancer Center Nomogram to predict non-sentinel lymph nodes metastases in a Dutch breast cancer population. *Eur J Cancer* 2013;49:564-71.

254. **Ohi Y, Umekita Y, Sagara Y, et al.** Whole sentinel lymph node analysis by a molecular assay predicts axillary node status in breast cancer. *Br J Cancer* 2012;107:1239-43.

255. **Osako T, Iwase T, Kimura K, et al.** Sentinel node tumor burden quantified based on CK19 mRNA copy number predicts non-sentinel node metastases in breast cancer: molecular whole-node analysis of all removed nodes. *Eur J Cancer* 2013;49:1187-95.

256. **Buglioni S, Di Filippo F, Terrenato I, et al.** Quantitative molecular analysis of sentinel lymph node may be predictive of axillary node status in breast cancer classified by molecular subtypes. *PLoS ONE* 2013;8: e58823.

257. **Banerjee SM, Michalopoulos NV, Williams NR, et al.** Detailed evaluation of OSNA molecular assay for intra-operative diagnosis of sentinel lymph node metastasis and prediction of non-sentinel nodal involvement: experience from a London teaching hospital. *Breast* 2014;23:378-84.

258. **Heilmann T, Mathiak M, Hofmann J, et al.** Intraoperative use of OSNA for detection of the tumor load of sentinel lymph nodes in breast cancer patients. *J Cancer Res Clin Oncol* 2013;139:1649-55.

259. **Teramoto A, Shimazu K, Naoi Y, et al.** OSNA assay for intraoperative prediction of non-sentinel lymph node metastasis in breast cancer patients with sentinel lymph node metastasis. *Breast* 2014;23:579-85.

260. **Rubio IT, Espinosa-Bravo M, Rodrigo M, et al.** Nomogram including the total tumor load in the sentinel nodes assessed by OSNA as a new factor for predicting nonsentinel lymph node metastasis in breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2014;147:371-80.

261. **Espinosa-Bravo M, Sansano I, Pérez-Hoyos S, et al.** Total tumor load as a prediction tool of non-sentinel node metastasis in patients with early breast cancer

and positive sentinel lymph node assessed by OSNA. 37 annual CTRC-AACR San Antonio Breast Cancer Symposium. December 2014.





